assainissement de l'environnement

Biotests conventionnels et évaluation des dangers: optimisation de l'outil bio-analytique

Québec

NOTE: Les opinions exprimées dans ce document n'engagent que la responsabilité de l'auteur et non celle du ministère de l'Environnement du Québec.

PROGRAMME D'AIDE À LA RECHERCHE ET AU DÉVELOPPEMENT EN ENVIRONNEMENT

Biotests conventionnels et évaluation des dangers: optimisation de l'outil bio-analytique

par

l'Institut national de recherche scientifique-Eau

pour

le Bureau de coordination de la recherche et du développement et
la Direction des laboratoires
Ministère de l'Environnement du Québec

Février 1989

90-01922/

Auteurs: Isabelle Guay
Pierre Couture
INRS-Eau, Université du Québec
Case postale 750
Sainte-Foy (Québec)
G1V 4C7

Cette étude a été subventionnée par le ministère de l'Environnement du Québec.

Mots clés: Toxicité, effluents industriels, dégradation, récupération, écotoxicologie de dépistage.

Dépôt légal - 2e trimestre 1989
Bibliothèque nationale du Québec
Bibliothèque nationale du Canada
ISBN 2-550-19891-3

Envirodoq 890311
QEN/AE-47/6

REMERCIEMENTS

Je désire tout d'abord remercier très sincèrement messieurs Claude Thellen et Pierre Couture. Un merci spécial à M. Claude Thellen du Ministère de l'Environnement du Québec pour l'intérêt soutenu, son appui et sa grande disponibilité tout au long de l'élaboration de ce projet. À mon directeur de mémoire M. Pierre Couture pour ses encouragements, sa disponibilité, ses conseils et sa patience particulièrement lors de la correction du mémoire.

Mes remerciements s'adressent aussi à madame Lucie Tremblay et messieurs Réjean Lemire et Richard Cardin pour leur collaboration et leur aide lors des travaux pratiques de laboratoire.

Je tiens aussi à souligner l'excellent travail de madame Lise Raymond pour la dactylographie de ce travail et à monsieur André Parent qui a dessiné les figures.

En dernier lieu je tiens à remercier mes confrères d'études et amis pour leurs encouragements soutenus.

RÉSUMÉ

Dans le cadre d'une évaluation des effets environnementaux d'effluents industriels, certaines informations relatives aux différentes propriétés du rejet sont nécessaires afin de préciser la signification environnementale des variables de toxicité. Des informations comme la persistance de la toxicité, la capacité assimilatrice du plan d'eau récepteur ou la tolérance du biotope ne sont pas présentement accessibles au gestionnaire.

Nous proposons une procédure de dépistage de dangers qui, utilisant des biotests conventionnels supportés par des analyses chimiques, permet d'apporter une dimension environnementale à la signification des mesures de toxicité.

Une série de procédures est sélectionnée de façon à obtenir trois niveaux d'informations complémentaires se référant à la toxicité d'effluents. Ces informations portent sur le comportement de l'effluent (procédures de dégradation, fractionnement), l'influence de milieu récepteur (procédure utilisant l'eau du milieu récepteur comme eau de dilution) et le caractère de la réponse biologique (procédures pour évaluer la récupération et l'acclimatation après l'exposition aux polluants).

La démarche est appliquée à un effluent de fabrique de pâtes et papiers et à un effluent synthétique représentatif d'une usine de placage.

Nos résultats montrent que:

(i) le biotest conventionnel est utile pour caractériser la toxicité relative d'un échantillon; il ne faut pas chercher à rattacher une signification environnementale aux résultats d'un biotest seul;

(ii) l'intégration de procédures de caractérisation permet cependant d'améliorer la signification environnementale des biotests en réponse à des préoccupations du gestionnaire;

(iii) l'ampleur d'une pollution doit être évaluée en regard:

- du milieu récepteur, parce que celui-ci agit sur la disponibilité de l'échantillon;
- du comportement de l'échantillon, parce que celui-ci peut être modifié et développer des effets insoupçonnés dans l'espace et dans le temps;
- de la réaction biologique, parce que l'organisme développe inévitablement des mécanismes de compensation face à une agression toxique;

(iv) une approche intégrée d'évaluation de la toxicité est essentielle pour une gestion améliorée.

TABLE DES MATIÈRES

		Page
REMERCIEMENTS		i
RÉSUMÉ		ii
TABLE DES MATIÈRES		iv
LISTE DES TABLEAUX		ix
LISTE DES FIGURES		xiii
LISTE ET DÉFINITION DES SYMBOLES		xv
INTRODUCTION		1
CHAPITRE 1		5
1.	PROBLÉMATIQUE DES OUTILS BIOANALYTIQUES	5
1.1	Toxicité et gestion de l'environnement	5
1.2	Limites de l'utilisation des outils bioanalytiques dans le processus de décision	8
1.3	Approche proposée	9
1.3.1	Choix des tests	9
1.3.2	Plan de caractérisation	13

Page

CHAPITRE 2 17

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES 17

2.1 Échantillons 17
2.2 Support physicochimique 18
2.3 Biotests conventionnels 18
2.3.1 Test de toxicité avec bactéries (Microtox) 18
2.3.2 Test de toxicité avec algues (Selenastrum capricornutum) 19
2.4 Expression de la toxicité 21

CHAPITRE 3 23

3. ACTIVITÉ 1: ÉTUDE DU COMPORTEMENT TOXIQUE D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL ET D'UN EFFLUENT SYNTHÉTIQUE - PERSISTANCE, DÉGRADABILITÉ ET FRACTIONNEMENT 23
3.1 Persistance et dégradabilité 23
3.1.1 Contexte et problématique 23
3.1.2 Objectifs 25
3.1.3 Procédures existantes 25
3.1.4 Procédures expérimentées 28
3.1.5 Résultats et discussion 34
3.1.6 Conclusions et implications pour la gestion 61

Page

3.2 Fractionnement 66

3.2.1 Contexte et problématique 66

3.2.2 Objectif 68

3.2.3 Procédures existantes 69

3.2.4 Procédures expérimentées 72

3.2.5 Résultats et discussion 74

3.2.6 Conclusions et implications pour la gestion 78

CHAPITRE 4 81

4. ACTIVITÉ 2: ÉTUDE D'INFLUENCE DU MILIEU RÉCEPTEUR SUR LA TOXICITÉ D'EFFLUENTS 81

4.1 Contexte et problématique 81

4.2 Objectifs 84

4.3 Protocole expérimental 85

4.4 Résultats et discussion 87

4.4.1 Influence de l'eau de dilution 87

4.4.2 Influence du pH 87

4.4.3 Effluent synthétique 90

4.5 Conclusions et implications pour la gestion 90

Page

CHAPITRE 5 95

5. ACTIVITÉ 3: ÉTUDE DE LA RÉPONSE BIOLOGIQUE À LA TOXICITÉ D'EFFLUENTS INDUSTRIELS 95

5.1 Contexte et problématique 95

5.2 Objectifs 96

5.3 Procédures existantes 97

5.4 Procédures expérimentées 98

5.5 Résultats et discussion 104

5.5.1 Exposition: effet sur la croissance 104

5.5.2 Récupération 106

5.5.3 Acclimatation 111

5.6 Conclusions et implications pour la gestion 116

CHAPITRE 6 121

6. Analyse globale des démarches adoptées et conclusion 121

6.1 Sommaire 121

6.2 Intégration dans une démarche d'évaluation des dangers 124

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 129

ANNEXES 143

LISTE DES TABLEAUX

Page

Tableau 1: Éléments pertinents pour le choix des procédures utilisées dans la caractérisation biologique/chimique d'un effluent (adapté de Renberg, 1984) 11

Tableau 2: Exemple d'informations pertinentes générées par l'outil bioanalytique 15

Tableau 3: Conditions expérimentales pour le biotest avec algues (adapté de Joubert, 1983) 20

Tableau 4: Divers modes d'évaluation de la persistance ou de la dégradabilité 26

Tableau 5: Procédures retenues pour la simulation de la dégradabilité d'un effluent industriel et leur signification 30

Tableau 6: Conditions expérimentales pour les essais des 4 procédures d'évaluation de la persistance 32

Tableau 7: Toxicités originales (U.T.) des échantillons d'effluents de pâtes et papiers et d'usine de plaquage synthétique 35

Page

Tableau 8: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (algues et Microtox) durant les procédures de vieillissement de l'effluent sans et avec aération 39

Tableau 9: Suivi des paramètres physicochimiques globaux lors du 2ième essai de vieillissement de l'effluent sans et avec aération .. 46

Tableau 10: Suivi du pH, du COD, des métaux, des bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox, 15 min.) lors du vieillissement de l'effluent synthétique (5%, v/v) sans et avec aération 49

Tableau 11: Toxicité préliminaire (Microtox) de l'effluent de pâtes et papiers 53

Tableau 12: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox, 15 min) durant les procédures de vieillissement de l'effluent (dilué à 25% v/v) avec l'eau de rivière et le seed commercial (1er essai) 55

Tableau 13: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox, 15 min) durant les procédures de vieillissement de l'effluent (dilué à 50% v/v) avec l'eau de rivière et le "seed" commercial (2ième essai) 58

Page

Tableau 14 Suivi de pH, de COD, des métaux, des bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox 15 min.) lors du vieillissement de l'effluent synthétique (1%, v/v) avec un "seed" commercial 60

Tableau 15: Techniques de fractionnement pour dépister la fraction toxique active dans un effluent 70

Tableau 16: Suivi du pH et de la toxicité lors du fractionnement par complexation des métaux avec l'EDTA 77

Tableau 17: Comparaison de la toxicité (Microtox 15 min.) de l'effluent de pâtes et papiers en fonction du pH et du type d'eau de dilution 88

Tableau 18: Comparaison de la toxicité (test algal, 8 jours) de l'effluent de pâtes et papiers en fonction du type d'eau de dilution et du pH 89

Tableau 19: Effet de l'ajustement du pH sur la toxicité de l'effluent synthétique (5% v/v) 91

Page

Tableau 20: Concentrations (%) maximales testées n'entrainant pas d'effet significatif (NOEC) sur la croissance algale 105

Tableau 21: NOEC pour les tests d'acclimatation aux temps 0, 96 et 192 112

Tableau 22: Détermination de la toxicité (UT) de l'effluent (0,1%) à partir de tests réalisés avec des algues acclimatées à différentes concentrations d'effluent synthétique . 114

Tableau 23 Inhibition (%) pour les concentrations 0,1, 0,05 et 0,03 d'effluent avec les populations d'algues acclimatées 115

LISTE DES FIGURES

Page

Figure 1: Démarche retenue pour l'évaluation de la persistance de la toxicité 29

Figure 2: Profil de réduction de la toxicité (Microtox - 15 min.) durant les procédures de vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers, sans et avec aération. Les pourcentages font référence à la la toxicité du jour 0 38

Figure 3: Profil de réduction de la toxicité (test algal - 8 jours) durant les procédures de vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers sans et avec aération. Les pourcentages font référence à la toxicité du jour 0 41

Figure 4: Profil de réduction de la toxicité (Microtox-15 min) durant les procédures de vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers avec l'eau de rivière et le "seed" commercial (2ième essai) 59

Figure 5: Suivi de la toxicité (Microtox-15 min) de l'effluent de pâtes et papiers conservé à près de 0°C 75

Page

Figure 6: Démarche retenue pour l'évaluation de l'influence de l'eau de dilution et du pH sur la toxicité d'un effluent 86

Figure 7: Démarche retenue pour l'évaluation des potentiels de récupération et d'acclimatation des organismes biologiques 100

Figure 8: Exposition des algues à l'effluent synthétique 104

Figure 9: Récupération des algues en milieu sain après (a) 24 heures d'exposition, et (b) 48 heures d'exposition 107

Figure 10: Récupération des algues en milieu sain après (a) 96 heures d'exposition et (b) 192 heures d'exposition 109

Figure 11: Courbes de croissance des algues repiquées en milieux contaminés après (a) 96 heures de pré-exposition et (b) 192 heures de pré-exposition 111

Figure 12: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'effluents industriels 123

Figure 13: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent de pâtes et papiers avec le biotest Microtox 126

Page

Figure 14: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent de pâtes et papiers avec le biotest algues 127

Figure 15: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent synthétique d'une usine de placage de métaux avec le biotest (M) Microtox et (A) algues 128

LISTE DES DÉFINITIONS ET SYMBOLES

B.H.A.A, : bactéries hétérotrophes aérobies ou anaérobies

CI50 : concentration d'une substance causant un effet d'inhibition déterminé chez 50% des organismes exposés pour un temps déterminé

CL50 : concentration tuant 50% des organismes pour un temps déterminé

COD : carbone organique dissous

Cr : chrome

Cu : cuivre

DBO : demande biologique en oxygène

DCO : demande chimique en oxygène

EDTA : acide éthylène diamine triacétique

EPA : environmental protection agency ou agence de protection de l'environnement

L : litre

LCSE : "Lowest concentration with significant effect" ou concentration minimale testée causant un effet

MENVIQ: Ministère de l'environnement du Québec

NOEC : "No observed effect concentration" ou concentration maximale testée ne causant pas d'effet

MES : matière en suspension

mg : milligramme

mL : millitre

Ni : nickel

UFC : unités formatrices de colonies

U.T. : unité toxique

Zn : zinc

% v/v : pourcentage volume/volume

INTRODUCTION

Les divers organismes de protection de l'environnement sont de plus en plus sensibilisés au fait que les réglementations élaborées pour le contrôle de la qualité des effluents doivent tenir compte non seulement de la composition chimique mais également des effets biologiques obtenus au cours de biotests. Alors que la caractérisation chimique renseigne le gestionnaire sur la quantité des éléments ou composés chimiques présents, les réponses biologiques le renseignent sur la toxicité de l'effluent.

Il existe un grand nombre de techniques chimiques et biologiques pour caractériser la toxicité des eaux résiduaires industrielles. On pourrait, en intégrant ces méthodes dans des programmes de surveillance de la qualité des rejets, dégager une signification environnementale aux résultats. Malheureusement à cause de contraintes économiques et logistiques, on est forcé de limiter non seulement le nombre de variables à mesurer, mais également on néglige d'obtenir des informations portant sur l'interaction polluant/milieu récepteur, la dégradation des composés déversés dans le milieu et la capacité des organismes à s'ajuster aux agressions des polluants.

Il semble que la façon actuelle de procéder favorise les industriels. Ceux-ci se servent par exemple de l'ignorance que l'on a du devenir des polluants pour argumenter qu'il y a une dégradation rapide de composés dans le milieu; ils évitent ainsi d'avoir à diminuer la charge polluante rejetée. Dans ce contexte, la persistance devient une variable importante à évaluer car elle

permet de déterminer avec plus d'exactitude les dangers environnementaux encourus par le déversement de tel ou tel type d'effluents.

De plus, dans le but d'exercer un contrôle de la toxicité, il n'est pas nécessaire de procéder à une caractérisation chimique exhaustive. La connaissance des principaux éléments ou composés responsables de la toxicité pourrait faciliter le choix du mode de traitement d'un effluent. L'élaboration d'une méthodologie de fractionnement permettant d'évaluer la toxicité des composants d'un effluent serait ici d'une grande utilité.

Bref, il nous apparait essentiel de procurer aux gestionnaires des outils pouvant le renseigner sur le devenir de la toxicité dans le milieu récepteur. Dans le processus de caractérisation de la toxicité d'un effluent, on néglige actuellement d'évaluer l'influence du milieu récepteur, le devenir des composants chimiques ou encore la capacité de tolérance des organismes exposés à ces rejets.

Le présent travail consiste à préciser et à appliquer une série de procédures de dépistage des dangers qui, associée à des biotests et à des analyses chimiques, permet d'apporter une dimension environnementale à la signification de la toxicité. La toxicité d'un échantillon d'usine de pâtes et papiers et d'un effluent synthétique (usine de placage) a donc été caractérisée en tenant compte:

1) du comportement de l'échantillon, à l'aide d'études concernant la dégradation et le fractionnement de l'échantillon (activité 1);

2) de l'influence du milieu récepteur, à l'aide d'études sur l'utilisation d'eau du milieu comme eau de dilution (activité 2);

3) de la réaction biologique suite à l'agression, à l'aide d'une méthodologie permettant d'évaluer la récupération et l'acclimatation après l'exposition aux polluants (activité 3);

4) de la pertinence de ces procédures des points de vue pratique et environnemental;

5) de la possibilité de développer une démarche écotoxicologique d'évaluation des dangers.

CHAPITRE 1

1. PROBLÉMATIQUE DES OUTILS BIOANALYTIQUES

1.1 Toxicité et gestion de l'environnement

Parmi les industries réglementées, comme c'est le cas pour le secteur des pâtes et papiers depuis 1972, celles qui sont conformes aux normes physico-chimiques et toxiques prescrites restent minoritaires. En général, pour le traitement des eaux usées, les mesures correctives retenues présentement consistent à diminuer la DBO, la quantité de solides en suspension et d'organismes pathogènes, et ce, en fonction des usages du milieu aquatique en aval des rejets. Parfois quelques substances bien connues, le plus souvent des métaux, et jugées comme prioritaires sont aussi contrôlées. Bien que ce contrôle vise à réduire la toxicité des effluents, celle-ci est rarement complètement éliminée et, il reste que, des substances dont on ne connait pas les effets, sont déversées dans le milieu. Une caractérisation de la toxicité de ces rejets s'impose donc.

La caractérisation d'un effluent a pour but de fournir les données nécessaires pour déterminer si oui ou non son rejet dans le milieu récepteur aura un impact néfaste sur le biota. Cette caractérisation peut être réalisée en deux volets à savoir (1) une évaluation de la qualité de l'effluent avant sa dispersion dans le milieu et (2) une évaluation des conséquences d'un tel rejet dans le milieu. Le premier de ces volets a été le plus étudié. Beaucoup

d'études ont rapporté la qualité chimique et toxique d'effluents industriels. Les conséquences de ces rejets sur l'environnement sont cependant mal connues.

Les données rassemblées dans la littérature trouvent une application au point de vue gestion dans (1) la définition des besoins de contrôle, (2) la réglementation des effluents, (3) la définition des priorités de traitement, (4) l'évaluation de l'efficacité de traitement, (5) la surveillance de la restauration du milieu et (6) la prévention face à un nouveau produit.

Les principales techniques pour caractériser un effluent sont l'analyse chimique, qui est la plus utilisée, et les tests de toxicité (bioessais). Si, comme mentionné plus haut, la caractérisation a pour but d'évaluer le danger pour le biota, il est essentiel de tenir compte de la toxicité. Le U.S. EPA a récemment développé une politique qui suggère l'utilisation d'une stratégie intégrée pour le contrôle des toxiques (Hanmer et Newton, 1984). Il est généralement accepté que les biotests sont des outils valables, générant une information utile et relativement peu coûteuse pour la prise de décisions face à la protection de l'environnement aquatique (Blaise et al., 1984; Mount, 1984). Certains biotests monospécifiques sont reconnus comme des outils de dépistage par plusieurs agences gouvernementales comme le U.S. EPA, Environnement Canada et Environnement Québec.

À l'échelle internationale, l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO) et l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) étudient certaines méthodes qui pourraient être standardisées pour évaluer la toxicité des produits chimiques.

Les variables mesurées au cours des biotests constituent une réponse biologique suite à une agression. Cette réponse est une intégration des effets combinés de la solubilité, de la force ionique et du temps de contact qui sont des facteurs agissant sur l'expression de la toxicité (Miller et al., 1978). Elle tient compte de la biodisponibilité des éléments, ce que l'analyse chimique conventionnelle ne permet pas toujours (Greene et al., 1978). Un autre point important dans la caractérisation des effluents est que la réponse biologique est intégratrice, c'est-à-dire qu'elle tient compte des interactions entre les divers composants du rejet (Maruyama et Yoshida, 1984; Renberg, 1984). Ainsi, les biotests sont aptes à donner des résultats plus convaincants que les analyses chimiques pour démontrer que des contrôles sont requis (OCDE, 1984).

Plusieurs arguments peuvent être invoqués pour appuyer l'utilisation de bioessais comme outils de gestion (détection, prévention et acquisition de connaissances dans des programmes de contrôle de la pollution). Parmi ceux-ci, la plus souvent mentionnée est la relation coût-efficacité. Dans plusieurs cas, il semblerait que les biotests soient plus économiques que les analyses chimiques (Mount, 1984; Renberg, 1984). Ceci devient plus évident à mesure que la complexité de l'effluent s'accroit.

En fait, les deux approches devraient être considérées comme complémentaires et ne peuvent être totalement dissociées. La combinaison de données biologiques et chimiques en écotoxicologie est indispensable pour augmenter la fiabilité des approches en précisant les effets (biotests) et en identifiant les causes (analyses chimiques) de la pollution.

1.2 Limites de l'utilisation des outils bioanalytiques dans le processus de décision

Malgré le fait que la caractérisation de la toxicité globale d'un effluent comme paramètre de contrôle de la pollution soit simple comparativement à la gestion spécifique de nombreux produits chimiques (parfois plus de 1 000 pour un même effluent) (OCDE, 1984), l'utilisation des résultats des bioessais n'est pas très étendue dans les processus de décision.

L'aspect le plus questionné des bioessais est leur potentiel à prédire l'impact dans le milieu. On fait le reproche qu'ils ne peuvent détecter les effets à long terme létaux et sous-létaux, et qu'ils sont peu efficaces pour évaluer les dangers sur la santé humaine. Signalons cependant que ces aspects se rencontrent également avec les analyses chimiques (OCDE, 1984). Évidemment d'autres travaux sont nécessaires pour faire le lien entre les tests de toxicité en laboratoire et les effets mesurés dans l'environnement en aval du rejet. Si la concentration d'une substance mesurée en bout de tuyau ne nous dit rien sur son impact dans le milieu (accumulation physique et/ou biologique, etc...) et sur ses interactions avec les autres composés, une valeur de toxicité mesurée en bout de tuyau dans des conditions de laboratoire ne peut nous renseigner sur ce qui advient dans le milieu récepteur.

Une approche de dépistage où plusieurs techniques de bioessais conventionnels sont associées à des analyses chimiques simples favoriserait l'interprétation environnementale des résultats. Il apparait également

important d'améliorer l'interprétation des tests de toxicité afin d'éviter soit une sous-estimation, soit une surestimation de la toxicité. On évitera ainsi la mise en doute de l'utilité des bioessais dans la prise de décision. Sous-estimer la toxicité peut mettre en danger le biota aquatique ou faire perdre un usage potentiel d'un plan d'eau; surestimer peut sembler un moindre mal mais risque d'entrainer des recommandations sévères à coûts trop élevés et des réticences de la part des industries visées.

Notre but, en tentant d'optimiser l'outil bioanalytique (bioessai), consiste à extraire le maximum d'informations des bioessais employés en routine dans plusieurs laboratoires, dont ceux du MENVIQ. Ce but sera atteint en intégrant des procédures capables de mettre en évidence diverses propriétés de l'effluent et du plan d'eau récepteur. Ces procédures consistent en des simulations de processus de dégradation, de mélange et de traitement de l'échantillon.

1.3 Approche proposée

1.3.1 Choix des tests

Il a déjà été mentionné plus haut que l'impact environnemental potentiel d'une eau résiduaire pouvait être caractérisé par l'analyse chimique et des mesures de toxicité.

Une batterie complète de tests couvrant les aspects létaux et sous-létaux de la toxicité est une opération longue et coûteuse. Des points de vue financier et scientifique, il est recommandé que les tests soient effectués de façon séquentielle, c'est-à-dire que les résultats d'un premier test simple et général soient utilisés pour faire, si nécessaire, le choix et le "design" de prochains tests présentants une complexité et des coûts plus élevés (Duthie, 1976; Kimerle, et al., 1977; Blaise et al., 1984). Il en ressort que l'expérimentation et l'évaluation devront en premier lieu nécessiter un minimum d'effort et que l'utilisation de l'information déjà existante est importante (OCDE, 1984).

Le choix des procédures individuelles pour la mise sur pied d'une batterie de tests de dépistage doit être considéré avec attention. Des éléments pertinents pour dresser un schéma de caractérisation biologique/chimique d'eaux résiduaires doivent être pris en considération (Tableau 1). L'objectif principal du dépistage en laboratoire étant l'identification rapide et au coût le plus bas possible de problèmes potentiellement traitables (Matthews et Bulich, 1986), le choix des procédures a donc principalement été basé sur ces deux critères: simplicité et coût.

Plusieurs bioessais utilisant des poissons, invertébrés, algues ou bactéries sont présentement applicables pour le dépistage de produits toxiques concernant la réglementation fédérale canadienne, seul le biotest avec la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri) est actuellement intégré dans la réglementation; ce biotest détermine la concentration qui tue 50% de la population exposée (CL50) et ne renseigne en rien sur les effets sous-létaux.

Tableau 1: Éléments pertinents pour le choix des procédures utilisées dans la caractérisation biologique/chimique d'un effluent (adapté de Renberg, 1984).

- Coûts faibles
- Rapidité
- Sensibilité
- Reproductibilité
- Simplicité d'utilisation
- Facilité d'uniformisation ou d'harmonisation avec des méthodes semblables

À l'intérieur d'un programme de caractérisation, une sélection de biotests appartenant à chacun des grands groupes mentionnés précédemment, devrait être idéalement faite. Malheureusement, on se fie souvent aux résultats d'un seul test ponctuel de létalité qui, s'il s'avère négatif, n'assure nullement la protection de l'environnement, la plupart des rejets provoquant des problèmes sous-létaux. Les essais avec des microorganismes (algues, protozoaires, bactéries) trouvent alors leur utilité puisque la réponse obtenue lors d'un test exprime habituellement une toxicité sous-létale. On détermine ainsi des concentrations effectives (CE) ou inhibitrices (CI) d'un processus quelconque, plutôt que des concentrations létales (CL) d'un polluant.

Certains biotests présentent des sensibilités différentes selon le type d'effluent. Le U.S. EPA (1985) recommande à ce sujet d'utiliser trois tests de toxicité avec des organismes ou des microorganismes de groupe taxonomique différent. L'évaluation des dangers est alors faite en fonction de l'espèce la plus sensible. Les espèces utilisées au ministère de l'Environnement du Québec sont l'algue Selenastrum capricornutum, le crustacé Daphnia magna et la bactérie Photobacterium phosphoreum (Microtox). Sur 36 échantillons d'effluents qui ont été testés selon des protocoles conventionnels, l'ordre de sensibilité de ces biotests est le suivant (Joubert, 1981):

S. capricornutum > S. gairdneri > D. magna > P. phosphoreum.

Il est à noter que l'ordre de sensibilité correspond ici à la durée d'exposition des organismes dans les biotests qui est fixée à 8 j avec S. capricornutum, 24 h avec D. magna, 96 h avec S. gairdneri et 5 min. avec P. phosphoreum.

Dans le cadre de ce travail nous avons retenu le biotest avec algue et le biotest avec bactérie.

Les algues unicellulaires (phytoplancton) sont les piliers de la chaîne trophique aquatique et la biomasse des niveaux supérieurs en dépend (Parrish, 1985; Blaise et al., 1987). Il est bien connu que ces populations sont senbibles aux changements environnementaux et que ce type de bioessai est utile pour déterminer les effets potentiels des rejets. En général, dans le cas d'échantillons d'eaux résiduaires, les espèces phytoplanctoniques sont plus sensibles que les espèces utilisées dans d'autres tests microbiologiques. Une étude récente de Blaise et al. (1987) met aussi en évidence la sensibilité particulière des algues aux effluents de pâtes et papiers. Enfin signalons, comme déjà mentionné, que ces biotests sont simples et peu coûteux.

Le test avec bactérie (Microtox) a également été conçu pour répondre au besoin grandissant de bioanalyses rapides. Il ne nécessite qu'un faible volume d'échantillon, ce qui est très utile dans un cadre de gestion. Il est efficace pour mettre en évidence une toxicité aiguë lorsque qu'utilisé sur des eaux résiduaires complexes contenant des produits organiques (Matthews et Bulich, 1986; Blaise et al., 1987).

1.3.2 Plan de caractérisation

Plusieurs types d'informations peuvent ressortir d'une caractérisation systématique d'un effluent: toxicité, persistance, potentiel

d'accumulation physique et biologique, propriétés physiques et chimiques, interaction avec les composantes de l'environnement (Branson, 1977; Kimerle et al., 1977; Bengtsson, 1984). Toutes ne seront pas étudiées ici, mais l'on peut tout de même diviser le plan de caractérisation qui sera exploité en trois domaines dépendamment du type de réponse désiré et de l'intérêt du gestionnaire (Tableau 2).

Simplement en utilisant des procédures de transformation de l'effluent et de simulation de divers processus naturels, et en utilisant la toxicité globale comme paramètre de comparaison on compte obtenir de l'information utile à trois niveaux:

1) sur le CONTAMINANT (l'effluent), en déterminant sa composition, sa toxicité originale, l'origine de cette toxicité par fractionnement, sa persistance dans le temps (volatilisation, dégradation) et son potentiel de traitabilité;
2) sur le MILIEU RÉCEPTEUR en précisant la capacité de modification de la toxicité par action physique (brassage, dilution), par action chimique (interactions avec des facteurs environnementaux comme le pH et la dureté) et/ou biologique (dégradation microbiologique);
3) sur les ORGANISMES en évaluant leur potentiel de récupération et/ou d'acclimatation (réversibilité de la toxicité).

Pour chacun de ces trois niveaux, des procédures ont été sélectionnées et adaptées en fonction de l'information désirée. L'utilisateur pourra à l'avenir demander un type particulier de test en fonction d'un objectif environnemental visé.

Tableau 2: Exemple d'informations pertinentes générées par l'outil bio-analytique.

PROCÉDURES	SIGNIFICATION
Contaminant	
- Dosage de la toxicité de l'échantillon original	Détermination de la toxicité originale
- Dosage comparatif de la toxicité de de l'échantillon avant et après traitement (physicochimique ou biologique)	Détermination du potentiel de dégradation
- Dosage comparatif de la toxicité a) avant et après neutralisation de composantes de l'échantillon b) par reconstitution de fractions synthétiques	Détermination des fractions contribuant à la toxicité
Milieu	
- Dosage de la toxicité avec une eau de dilution uniformisée	Détermination de la toxicité relative
- Dosage comparatif de la toxicité avec différentes eaux de dilution	Détermination de la capacité de transformation de la toxicité par le milieu
- Dosage comparatif de la toxicité en relation avec un facteur environnemental (pH; dureté; etc.)	Détermination de l'influence de facteurs environnementaux sur la toxicité
Organisme biologique	
- Dosage de la toxicité avec bioindicateurs non-exposés	Détermination de la toxicité relative
- Dosage comparatif de la réponse biologique a) après récupération en milieu sain b) après prolongation de l'exposition en milieu contaminé	Détermination du potentiel d'adaptation des organismes biologiques
- Bioaccumulation de la toxicité a) organismique b) trophique	Détermination du potentiel d'amplification de la toxicité

CHAPITRE 2

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Seuls les protocoles de base employés pour la réalisation des diverses activités sont décrits dans ce chapitre. Les procédures spécifiques sont précisées au fur et à mesure dans les sections portant sur chacune des activités (chapitre 3).

2.1 Échantillons

L'ensemble des activités expérimentales ont été réalisées avec un effluent composé provenant d'une usine de pâtes et papiers de type Kraft située à La Tuque. Un échantillon instantanné d'eau de la rivière Saint-Maurice a également été prélevé à l'amont du point de rejet; cette eau a servi comme eau de dilution lors de la réalisation de certains tests. La campagne d'échantillonnage a été menée par une équipe de relevés du Ministère, le 11 novembre 1986, selon les normes prescrites pour l'échantillonnage d'un effluent industriel. Les modalités d'échantillonnage sont décrites à l'annexe I. Un effluent synthétique de composition connue et de toxicité persistante a été préparé pour vérifier l'applicabilité des procédures. Ce dernier était constitué d'un mélange de Ni (68 mg/L), Cr (21,4 mg/L), Cu (7,6 mg/L) et Zn (2,1 mg/L) de façon à être représentatif de la composition des éléments actifs d'un effluent d'une usine de placage de métaux (annexe II). Ce mélange est considéré ici comme un effluent synthétique persistant (non dégradable) par rapport à l'effluent dégradable de pâtes et papiers.

2.2 Support physico-chimique

La caractérisation physico-chimique de l'effluent de pâtes et papiers et de l'eau de la rivière réceptrice a été effectuée à la réception des échantillons au laboratoire. Les résultats analytiques sont listés à l'Annexe II. Certains paramètres ont également été mesurés de façon sporadique afin de disposer d'informations complémentaires aux résultats des biotests. Les résultats sont précisés pour chaque activité décrite aux chapitres 3, 4 et 5.

Les analyses furent réalisées dans les laboratoires du MENVIQ à partir de protocoles uniformisés.

2.3 Biotests conventionnels

2.3.1 Test de toxicité avec bactéries (Microtox)

Ce biotest est basé sur la détermination de l'activité bioluminescente de la bactérie marine Photobacterium phosphoreum. Une réduction de l'émission de lumière est interprétée comme une perturbation d'un mécanisme physiologique induit par la présence de substances toxiques. Les résultats expriment une CI50 - 5 ou 15 min. selon le temps d'exposition préalablement choisi.

Les biotests ont été réalisés à l'aide de l'appareil Microtox (Toxicity Analyser System, Beckman Instruments Inc., Modèle 2055) et du réactif Microtox constitué d'une souche génétiquement uniformisée de P. phosphoreum (Beckman, 1980).

Les expériences furent menées en duplicata sur 5 concentrations d'effluents. La concentration d'effluent (en % v/v) occasionnant une réduction de 50% de l'intensité lumineuse suite à des incubations de 5 ou 15 min. fut déterminée par interpolation. Il faut cependant signaler que les CI50 > 50% v/v furent calculées par extrapolation. Par ailleurs on effectuait au préalable, selon le besoin, un test de couleur qui permet de compenser pour l'absorption de lumière liée à la couleur ou la turbidité de l'échantillon.

Le traitement des données fut réalisé sur ordinateur à l'aide d'un programme mis au point par la compagnie Beckman et modifié à Environnement Canada. Par souci de concision, seuls les résultats de l'incubation de 15 min. ont été ici discutés. Il est d'ailleurs bien connu que la toxicité déterminée suite à une incubation de 15 min. est plus élevée que celle obtenue avec une incubation de 5 min.; de plus, ces deux valeurs fluctuent synchroniquement.

2.3.2 Test de toxicité avec algues (Selenastrum capricornutum)

Les tests ont consisté globalement à déterminer l'inhibition de croissance de l'algue unicellulaire S. capricornutum après une période d'incubation de 8 j. Les résultats expriment une CI50 - 8 j.

Les tests furent réalisés à l'aide de l'espèce recommandée par le U.S. EPA, soit S. capricornutum, selon le protocole utilisé au ministère de l'Environnement du Québec (Joubert 1983). Chaque dilution d'effluent (généralement 5 ou 10) a été préparée en triplicata. Les principales conditions expérimentales sont résumées au tableau 3 et à l'annexe III.

Tableau 3: Conditions expérimentales pour le biotest avec algues (adapté de Joubert, 1983).

Espèce :	Selenastrum capricornutum
Traitement de l'échantillon:	enrichissement avec le milieu AAM[1] · ajustement du pH entre 6.5 et 8.0 (NaOH, 5%; HCl, 5%) · filtration sur Millipore 0,45 µm (HA)
Inoculum:	1 000 algues/mL dans 25 mL d'échantillon
Durée:	8 j
Conditions d'incubation:	· statique, agitation manuelle 2 fois/j · 22-26°C · lumière continue 100 µE/sec/m^2 · fioles coniques de 125 mL
Paramètre:	· biomasse évaluée par dénombrement cellulaire; · inhibition déterminée avec le rapport biomasse évaluée/biomasse calculée
Variable:	CI50 - 8 j

[1] Enrichissement de façon à obtenir des concentrations minimales en macro- et micro-éléments équivalentes à 0,625 x celles du milieu AAM sans EDTA (voir la composition du milieu à l'Annexe III).

Les pourcentages d'inhibition de croissance furent déterminés en comparant les biomasses obtenues lors des tests par rapport aux biomasses calculées à partir des concentrations en N et P de l'échantillon (Joubert, 1980). Les valeurs de CI50 - 8 j furent calculées à l'aide de la méthode Probit.

2.4 Expression de la toxicité

Les valeurs de CI50 et les intervalles de confiance ont été transformées en Unités Toxiques (U.T.) telles que définies par Sprague et Ramsay (1965). Les U.T. expriment le rapport de la concentration originale (100%, v/v) sur la valeur de CI50 selon la relation suivante:

$$UT = \frac{100}{CI50}$$

La variable UT exprime également le facteur de dilution pour ramener la toxicité à une CI50 de 100%.

CHAPITRE 3

3. ACTIVITÉ 1: ÉTUDE DU COMPORTEMENT TOXIQUE D'UN EFFLUENT INDUSTRIEL ET D'UN EFFLUENT SYNTHÉTIQUE - PERSISTANCE, DÉGRADABILITÉ ET FRACTIONNEMENT

3.1 Persistance et dégradabilité

3.1.1 Contexte et problématique

Certains produits chimiques hydrosolubles peuvent, tout en étant disséminés dans le milieu aquatique, conserver leurs propriétés physiques et chimiques. Ces polluants persistants (qui ne se dégradent pas facilement) peuvent s'accumuler et atteindre des niveaux nuisibles au biota.

La notion de "comportement toxique" d'un effluent ou d'un composé fait référence aux modifications que subit l'effluent ou le composé suite à son déversement. Ces modifications qui engendrent des changements dans les propriétés toxiques résultent de l'action de processus de dégradation comme la photodécomposition et la décomposition microbiologique, de processus de compartimentation telles la déposition dans les sédiments et la volatilisation (Branson, 1977; Simovic et Snodgrass, 1985; U.S. EPA, 1985), et enfin, de processus de bioaccumulation (Renberg, 1984).

Lorsque les substances ne sont pas rapidement dégradées, la toxicité se diffuse en aval du rejet sur des distances importantes (Kimerle et al.,

1977; Dafoe et al., 1984; Renberg, 1984) par rapport aux faibles distances de diffusion pour les substances qui sont dégradées rapidement. Cet aspect doit être pris en considération par le gestionnaire dans l'évaluation des dangers de façon à protéger adéquatement les usages situés en aval du rejet. Il est donc essentiel que des approches permettant de préciser la persistance des composés dans le milieu récepteur soient développées (Gilbert, 1979; U.S. EPA, 1985; Kuivasniemi et al., 1986). D'ailleurs Mount (1984), de même que Hanmer et Newton (1984) mentionnent qu'il existe un urgent besoin de développer de telles approches.

La plupart des approches élaborées au Canada et aux États-Unis pour caractériser la toxicité d'un effluent ne considèrent pas la notion de persistance (Mount, 1984). On se contente pour l'instant d'utiliser des tests de dépistage pour évaluer un potentiel de dégradation. En fait, la question à laquelle il faut ultimement répondre est: pour combien de temps, sur quelle étendue et avec quelle intensité, la toxicité du rejet persistera-t-elle dans le milieu?

Les connaissances ainsi acquises permettent d'éviter de définir des normes excessives basées sur des indices relatives à la toxicité originale des effluents. Ces connaissances seraient très utiles par exemple, dans le processus d'élaboration de directives pour l'émission d'effluents rapidement dégradables dont la toxicité est associée à la matière organique (Mount, 1984). Par ailleurs, la caractérisation de la dégradabilité d'un effluent renseigne également sur sa traitabilité (Leach et al., 1977).

3.1.2 Objectifs

Nos travaux ont consisté à mettre au point une procédure rapide et simple d'évaluation de la persistance de la toxicité à partir de la détermination du potentiel de dégradabilité d'un effluent. Les résultats ont été analysés dans la perspective de définir un test de dépistage de la persistance ou de la dégradabilité en tenant compte de la signification par rapport au milieu récepteur.

3.1.3 Procédures existantes

Il existe deux groupes de tests pour évaluer la dégradabilité d'un échantillon d'eau usée (Gilbert, 1979):

1) des tests de dégradabilité microbienne, qui révèlent la susceptibilité de composés à être métabolisés par des microorganismes;
2) des tests de simulation qui évaluent le taux de dégradation sous diverses conditions (avec et sans oxygène, en utilisant une eau de rivière spécifique ou encore des sédiments de telle ou .telle provenance).

Le tableau 4 résume les diverses procédures. La plus simple est la DBO_5 effectuée en 5 j directement sur l'échantillon avec ou sans ajout d'un "seed" bactérien (APHA et al., 1980). Cette technique est employée de façon routinière. Les autres méthodes de dégradation microbienne requièrent entre 9

Tableau 4: Divers modes d'évaluation de la persistance ou de la dégradabilité.

Méthodes	Durées	Critères	Références
- DBO_5 (avec ou sans "seed")	5 j	Consommation d'O_2	APHA et al. (1980)
- Boues activées			
dégradabilité totale	42 j	COT	AFNOR (1977)
digestion anaérobie	24 j	Réduction de la toxicité (truite)	Leach et al. (1977)
- Bactéries marines	9 j	Non précisé	Aubert (1981)
- Microflore de sols	42 j	Réduction de la toxicité (Microtox)	Matthews et Bulich (1986)
- Autoclavage		Réduction de la toxicité	MENVIQ (1986)
- Entreposage avec aération	4 j	Demi-vie de la toxicité	U.S. EPA (1985)
- Vieillissement avec eau naturelle	8 j	Réduction de la toxicité (algues)	Kuivasniemi et al. (1986)

et 42 j d'expérimentation; ils ne rejoignent pas les critères de simplicité et de rapidité, requis pour des tests de dépistage utilisés en routine.

Le test de dégradation abiotique envisagé par le Ministère (ministère de l'Environnement du Québec, 1986) permet, par autoclavage, de caractériser la présence de produits organiques toxiques (Blanck et al., 1983). Par contre, ces conditions expérimentales ne sont pas représentatives du milieu naturel et on ne peut associer les modifications sur la toxicité à une mesure de la persistance de la toxicité dans le milieu.

Aux États-Unis (U.S. EPA, 1985), on propose trois tests pour évaluer le changement de la toxicité après le rejet:

1) des tests conventionels de toxicité où l'eau du milieu récepteur est utilisée comme eau de dilution; cette approche est discutée au chapitre 4;
2) des tests ambiants de toxicité;
3) des tests de vieillissement artificiel de l'effluent dans le temps.

Cette troisième approche semble être la plus prometteuse pour étudier la persistance. Le U.S. EPA propose d'exprimer les résultats des biotests de persistance en terme de demi-vie, c'est-à-dire en unités de temps nécessaires pour réduire la toxicité de moitié (Horning et Weber, 1985). Si après 4 j de vieillissement d'un échantillon (exposition à des conditions normales: T° ambiante, lumière du jour, aération), la toxicité diminue de 50% ou plus, le

phénomène est reconnu "non-persistant". Kuivasniemi et al. (1986) ont utilisé une variante de cette approche sur un effluent de pâtes et papiers; le processus de vieillissement de l'effluent a été effectué pendant 8 jours à diverses concentrations obtenues avec des eaux provenant de plusieurs lacs de caractéristiques physico-chimiques différentes. Matthews et Bulich (1986) ont utilisé le concept de la persistance pour estimer le temps de détoxification de produits enfouis dans un sol.

3.1.4 Procédures expérimentées

Le schéma de la démarche réalisée ici est présenté à la figure 1. La toxicité originale (avant les expériences de dégradation) de l'effluent de pâtes et papiers a été déterminée dès son arrivée au laboratoire à l'aide des biotests Microtox et algues (voir description méthodologique section 2.3.1 et 2.3.2). En ce qui concerne l'effluent synthétique, la toxicité originale est évaluée immédiatement après la préparation.

Quatre procédures furent retenues pour évaluer le potentiel de dégradabilité (Tableau 5). L'expérimentation a été réalisée en triplicata, à la température ambiante (24 ± 2°C) et sous un éclairage artificiel (tubes fluorescents) d'une période de 12 h par jour.

Pour les procédures 2, 3 et 4, une aération en continu était maintenue à l'aide de diffuseurs (pierres poreuses). Le débit d'air était suffisamment élevé pour maintenir les particules en suspension. L'évaporation a

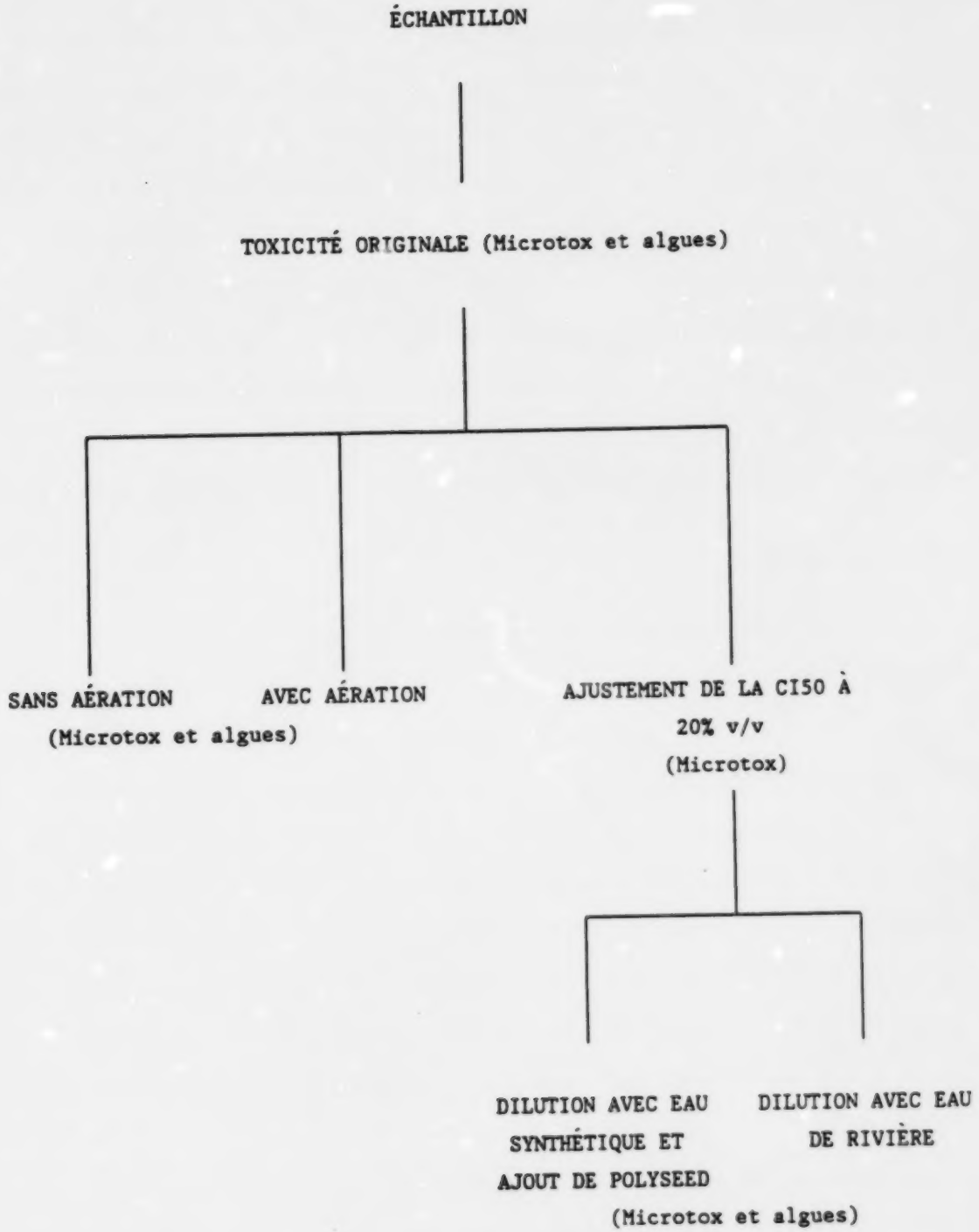


Figure 1: Démarche retenue pour l'évaluation de la persistance de la toxicité.

Tableau 5: Procédures retenues pour la simulation de la dégradabilité d'un effluent industriel et leur signification.

PROCÉDURES	SIGNIFICATION
Dégradation sans "seed"	
(1) Vieillissement sans aération	Dégradabilité inhérente à l'échantillon
(2) Vieillissement avec aération	Dégradabilité inhérente à l'échantillon suite au brassage
Dégradation avec "seed"	
(3) En présence d'une communauté microbienne du milieu récepteur	Dégradabilité microbienne spécifique au milieu récepteur
(4) En présence de "seed" commercial	Dégradabilité microbienne non spécifique

été compensée par l'ajout journalier d'eau Millipore de façon à rétablir le poids des contenants. Plusieurs essais ont été effectués et à chaque fois, les conditions expérimentales étaient ajustées de façon à améliorer la procédure. Les diverses conditions expérimentales sont décrites au tableau 6.

L'eau de dilution utilisée dans la procédure 3 provenait d'un sous-échantillon non filtré prélevé sur la rivière Saint-Maurice. Elle a été conservée une semaine à l'obscurité à la température du laboratoire avant son utilisation. Une aération constante était fournie pour stimuler la croissance bactérienne qui était suivie à l'aide de la méthode BHA 20°C employée au MENVIQ (APHA et al., 1980).

Les expériences liées à la procédure 4 furent réalisées à l'aide d'un "seed" de type POLYSEED. Il s'agit d'un mélange commercial de bactéries déshydratées utilisé pour des tests de DBO_5. Ce réactif biologique était activé en le mélangeant (agitation constante par barbottage) durant une heure avec une eau synthétique dont la composition est décrite à l'Annexe IV. Cette solution préalablement filtrée sur une laine de verre, était utilisée pour les tests de dégradation en présence de "seed" commercial. En se basant sur le rapport des volumes utilisés pour les tests de DBO_5, i.e. 2 mL de réactif biologique / 300 mL d'effluent, on a utilisé, pour le test de dégradabilité avec "seed", 15 mL de réactif pour 2 L d'effluent dilué avec l'eau synthétique.

Le taux de dilution était établi à l'aide d'expériences préliminaires pour éviter que l'effluent soit toxique au "seed" utilisé. Le test Microtox a

Tableau 6: Conditions expérimentales pour les essais des 4 procédures d'évaluation de la persistance.

VIEILLISSEMENT SANS ET AVEC AÉRATION
EFFLUENT: PATES ET PAPIERS

1er essai	2e essai
Dilution initiale: 100% v/v	Dilution initiale: 100% v/v
Durée: 8 j	Durée: 4 j
Replicats: 3	Replicats: 2
Biotest: Algues, Microtox	Biotests: Microtox
Analyses: pH, bactéries	Analyses: COD, MES, pH, DBO, Bactéries

DÉGRADATION AVEC "SEEDS" BACTÉRIENS
EFFLUENT: PATES ET PAPIERS

1er essai	2e essai
Dilution initiale: 25% v/v	Dilution initiale: 50% v/v
Durée: 4 j	Durée: 4 j
Replicats: 3	Replicats: 3
Biotests: Algues, Microtox	Analyses: Algues*, Microtox*
Analyses: pH, bactéries	Analyses: pH, bactéries

VIEILLISSEMENT ET DÉGRADATION
EFFLUENT: SYNTHÉTIQUE

Dilution initiale: 5% v/v
Durée: 4 j
Replicats: 2
Biotests: Microtox

Analyses: pH, COD, Métaux (Cr, Cu, Zn, Ni, bactéries)

* Sous-échantillons préalablement filtrés sur membranes de 0,22 µm.

servi à déterminer la toxicité de l'effluent et à calculer le taux de dilution de façon à obtenir une CI50 voisine de 20% v/v (soit 5 UT; Matthews et Bulich, 1986). Cette dilution est essentielle pour maintenir des conditions sous-létales et éviter un effet bactéricide dès le début de l'expérimentation.

Pour les procédures 1 et 2, les changements dans la toxicité furent suivis après 0, 1, 4 et 8 j de vieillissement à l'aide du test Microtox et après 0, 4 et 8 j de vieillissement avec ce même test, puis après 0, 4 et 8 j. de vieillissement à l'aide du test algal. Pour les procédures 3 et 4, les changements de toxicité furent suivis après 0, 1 et 4 j avec le test Microtox et après 0 et 4 j avec le test algal.

Des contrôles furent effectués avec l'eau de rivière aérée et avec le "seed" dans une eau synthétique pour vérifier s'ils n'induisaient pas eux-mêmes une certaine toxicité. Ces expériences furent réalisées dans les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées pour la dégradation; des échantillons filtrés (0,22 µm) furent soumis aux deux biotests.

L'importance de la réduction de la toxicité a été évaluée en comparant la moyenne des UT déterminées avec un biotest pour un temps de vieillissement par rapport à celle obtenue au temps 0. Un test de Student pour échantillons appariés fut employé pour identifier les différences significatives ($p = 0,95$). Les coefficients de variation des réplicats sont également calculés pour estimer la reproductibilité de la méthode.

Des expériences complémentaires (tableau 9) ont été effectuées en reprenant les procédures 1 et 2 et en déterminant le pH, le nombre de bactéries, les UT à l'aide du test Microtox et les concentrations de métaux par balayage au plasma. Ces déterminations furent effectuées après 0, 1 et 4 j de vieillissement. Des mesures de DBO et de MES furent également effectuées aux jours 0 et 4 seulement étant donné le volume d'échantillon requis.

Les procédures 1, 2 et 4 ont également été menées avec l'effluent synthétique; les changements de toxicité ayant été suivis après 0 et 4 j avec le test Microtox (tableaux 10 et 14). Les teneurs en pH, COD, bactéries hétérotrophes et les concentrations des 4 métaux (Cr, Cu, Zn et Ni) ont aussi été déterminées avant et après les 4 j d'incubation.

3.1.5 Résultats et discussion

Toxicité originale

Au tableau 7 apparaissent les toxicités originales de deux types d'effluent déterminées à partir des biotests algues et Microtox. L'analyse de ces résultats nous indique que les deux effluents sont toxiques, bien que les valeurs obtenues varient. Elle nous donne aussi une évaluation de l'impact ponctuel de ces rejets industriels et une approximation de la dilution requise pour éviter la toxicité aigüe à l'effluent. Cependant ces résultats génèrent peu d'informations sur le devenir de leur toxicité respective. Il est raisonnable de penser que ce devenir ne sera pas le même pour les deux types

Tableau 7: Toxicités originales (U.T.) des échantillons d'effluents de pâtes et papiers et d'usine de plaquage synthétique.

BIOTESTS	TYPE D'EFFLUENT			
	PÂTES ET PAPIERS	SYNTHÉTIQUE (v/v) à: 100%	5%	1%
Microtox	29	ind.	6,6	2,5
Algues	7,1	ind.	ind.	ind.

ind.: indéterminée; toxicité trop élevée

d'effluent; ils ne peuvent pas être considérés de la même façon malgré leur toxicité commune. Ces résultats peuvent être complétés par une analyse spatio-temporelle de la toxicité à partir d'une évaluation de la persistance de la toxicité des effluents.

Ces résultats mettent aussi en évidence les variations dans la réponse des organismes face à une agression toxique. De fait, les algues semblent moins sensibles que les bactéries à un effluent de pâtes et papiers tandis que'elles sont fortement perturbées par l'effluent métallique. Généralement, le test algal est plus sensible que le test Microtox (Joubert, 1981) du fait que le temps de contact entre les organismes et le polluant est plus long (8 j vs 15 min). La situation inverse, observée pour l'effluent de pâtes et papiers, provient certainement de la plus longue période d'incubation qui favorise les processus de dégradation pendant le test. Des processus tels la biodégradation due au développement de la flore microbienne de l'effluent, la photodégradation par l'éclairage en continu, la volatilisation de composés toxiques et l'ajustement de pH peuvent avoir été impliqués. De plus, il faut mentionner que l'échantillon soumis au test d'algues est préalablement filtré (0,45 µm), ce qui n'a pas été le cas pour l'échantillon destiné au test Microtox; une partie des substances responsables de la toxicité peut être exclue (Kuivarsniemi et al., 1986). Cette hypothèse est discutée à la section 3.2 qui concerne le fractionnement par filtration.

Les algues sont plus sensibles à l'effluent synthétique que le réactif Microtox; le temps de contact est plus long et la sensibilité des

algues aux métaux est connue (Joubert, 1981). Il n'a pas été possible de calculer une CI50 même après avoir dilué l'effluent à 1% v/v; la toxicité étant trop élevée.

Potentiel de persistance de la toxicité : procédures sans (1) ou avec (2) aération

a) Effluent de pâtes et papiers

. Réduction de la toxicité selon Microtox et algues

Les procédures de dégradation sans et avec aération ont entrainé une réduction significative de la toxicité de l'effluent de pâtes et papiers, mesurée au Microtox (figure 2, tableau 8). Cette baisse est rapide entre les jours 0 et 1 et plus lente par la suite. Bien que la réduction de toxicité mesurée pour les solutions aérées est plus grande, la différence entre les deux procédures n'est pas significative.

Pendant la même période de temps, la toxicité de l'effluent original conservé à 0°C a aussi diminué mais à un niveau moindre; sa toxicité passe de 20 à 11 en 4 j. et à 6,6 en 8 j. Cette différence par rapport aux échantillons traités peut s'expliquer par la température élevée et l'éclairage responsables de l'augmentation des processus de dégradation microbienne et photochimique des produits organiques toxiques. Ces résultats montrent aussi que l'effluent contient des substances hautement dégradables et une flore microbienne

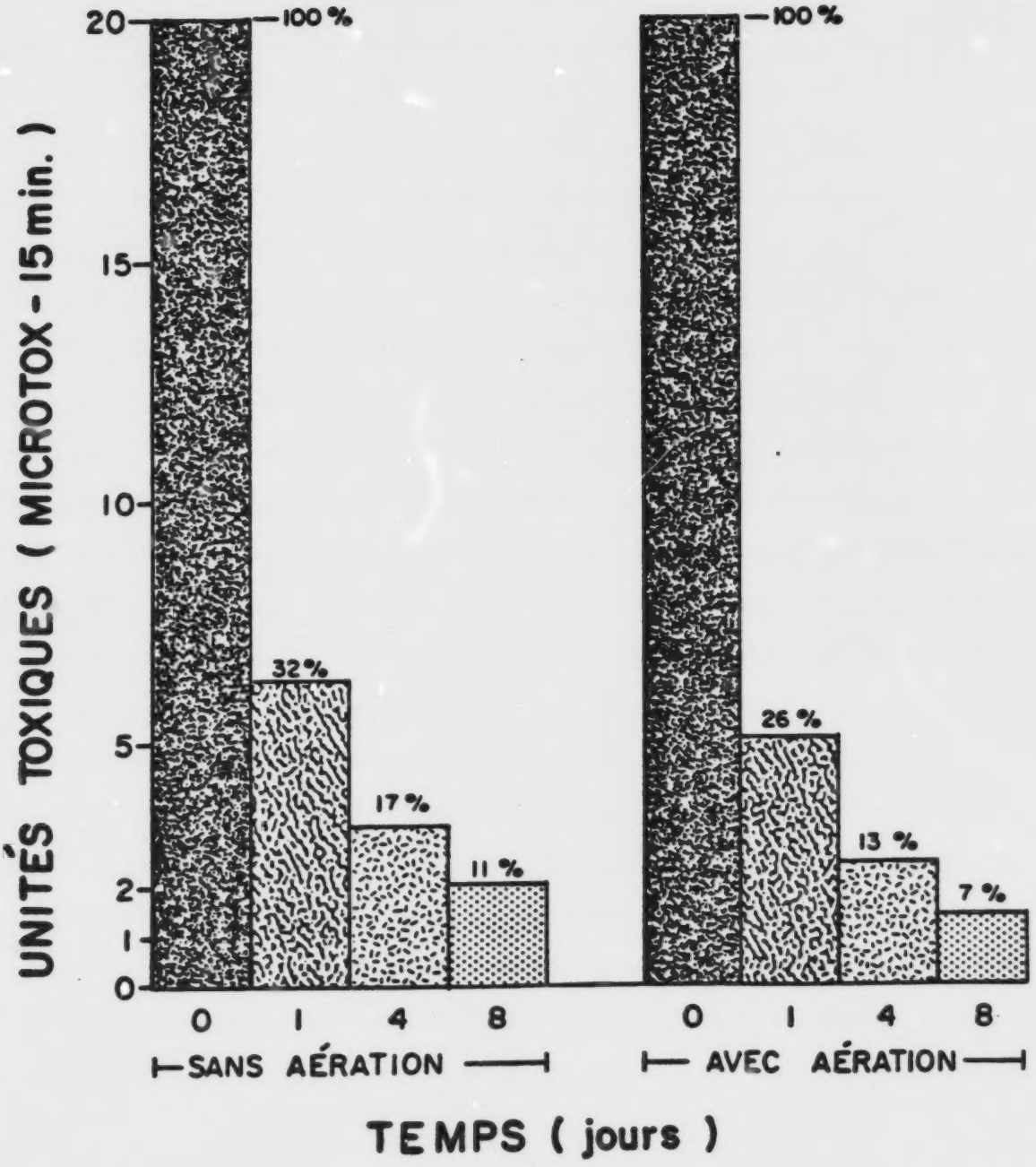


Figure 2: Profil de réduction de la toxicité (Microtox - 15 min.) pendant le vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers, utilisant les procédures sans et avec aération. Les pourcentages font référence à la toxicité du jour 0.

Tableau 8: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (algues et Microtox) durant les procédures de vieillissement de l'effluent sans et avec aération.

PARAMÈTRE	SANS AÉRATION				AVEC AÉRATION			
	0 j	1 j	4 j	8 j	0 j	1 j	4 j	8 j
pH	5,1	5,0	5,8	6,4	5,1	5,7	6,0	6,3
Bactéries (UFCx10^6/mL)	0,37	-	6,3	-	0,37	-	3,6	-
Toxicité (UT)								
Microtox	20	6,6	3,5	2,1	20	6,1	2,5	1,4
		6,2	3,3	2,7		4,1	2,3	1,5
		6,0	3,2	1,3		5,1	2,7	1,2
$\bar{X}$		6,3	3,3	2,1		5,1	2,5	1,4
S		0,3	0,2	0,7		1,0	0,2	0,2
C.V.(%)		4,9	4,6	31,0		19,6	8,0	10,3
Algues	6,7	-	4,8	4,0	6,7	-	2,6	5,3
	7,1	-	5,3	3,6	7,1	-	2,7	2,7
	9,1	-	3,3	2,7	9,1	-	-	5,3
$\bar{X}$	7,6	-	4,5	3,4	7,6	-	2,7	4,4
S	1,3	-	1,0	0,7	1,3	-	0,1	1,5
C.V. (%)	16,9	-	23,1	19,6	16,9	-	2,6	34,1

- : non échantillonné

abondante. La présence de ces bactéries est confirmée par le dénombrement en bactéries hétérotrophes (tableau 8). Cette forte croissance bactérienne pendant le vieillissement nous montre que les processus de biodégradation ont été actifs et que la baisse de toxicité a été reliée à l'oxydation de matières organiques toxiques.

Ces résultats sont en accord avec les connaissances acquises sur les effluents de pâtes et papiers; leur toxicité est principalement due aux composés organiques tels les acides résiniques et les composés phénoliques, ainsi qu'à des produits volatiles. Ces derniers sont probablement impliqués dans la baisse rapide de toxicité observée dans les premières 24 h.

Le patron de réduction de toxicité mesurée avec le test algal est un peu différent. On a déjà remarqué que la toxicité pour les algues est plus faible que pour le réactif Microtox. Néanmoins, une réduction significative de la toxicité est également mise en évidence (figure 3). Il est a remarqué que l'échelle en ordonnée n'est pas la même que celle de la figure 2, et qu'aucune toxicité est mesurée après 24 h de vieillissement. On observe aussi qu'après 4 j de vieillissement, la toxicité sur les algues demeurent supérieure à celle déterminée au Microtox. Du reste, la toxicité se maintient à environ à 4 U.T. après les 8 j d'incubation. L'augmentation de toxicité observée après 8 j pour la procédure avec aération n'est pas significative. En fait, entre 4 et 8 j, les différences de toxicité entre les solutions ne sont pas significatives. Il semble donc que les algues détectent une toxicité autre que celle originant de produits organiques rapidement dégradables. Cette toxicité persistante peut provenir de composés organiques plus réfractaires à

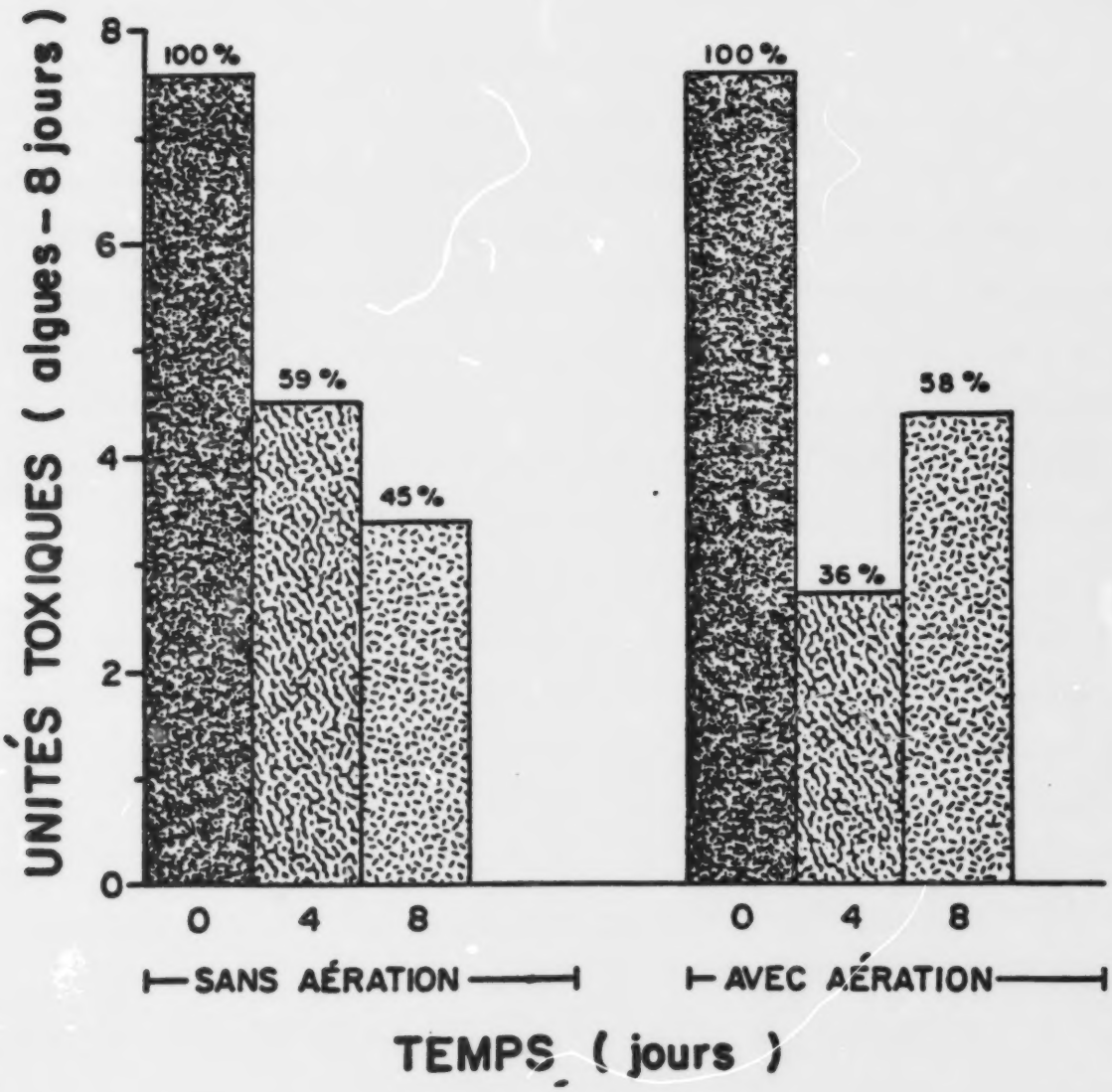


Figure 3: Profil de la réduction de toxicité (test algal - 8 jours) pendant le vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers utilisant les procédures sans et avec aération. Les pourcentages font référence à la toxicité du jour 0.

la dégradation tels des acides résiniques chlorés, à des composés phénoliques, ou à des métaux; on connait la sensibilité des algues aux métaux et le peu de sensibilité du test Microtox à la toxicité métallique (Joubert, 1980). Cette hypothèse est soutenue par un rapport d'échantillonnage du même effluent, où l'on attribue une partie de la toxicité aux concentrations excessives de métaux comme l'aluminium, le chrome, le fer, le manganèse et le zinc (Menviq, 1985).

Contrairement à nos résultats, Kuivasniemi et al. (1986) n'observent pas de différences significatives entre les toxicités mesurées avec algues après 0 et 4 j. Dans leur étude, même après 8 j, la toxicité n'était que légèrement plus faible par rapport au jour 0. L'explication pourrait provenir du mode de conservation de leur échantillon d'effluent. Nous avons discuté précédemment de l'importance de la croissance bactérienne dans le processus de diminution de la toxicité. L'échantillon ayant été conservé congelé, il est possible que la population bactérienne ait été fortement perturbée par ce processus, et que suite à la décongélation, le taux de croissance ait été faible. Malheureusement, ces auteurs n'ont pas fait de dénombrement bactérien. Il est bon de rappeler que dans la plupart des directives concernant les bioessais, il est recommandé de conserver les échantillons d'effluents, spécialement ceux qui contiennent de la matière organique biodégradable, dans un endroit réfrigéré (4°C) et non en les congelant.

En résumé, le test Microtox, sensible aux produits organiques a permis de mesurer la réduction de toxicité de l'effluent dans le temps, tandis que le test algal met en évidence la présence de la toxicité résiduelle persistante.

· **Facteurs contribuant à la réduction de toxicité**

Outre la biodégradation des composés, plusieurs facteurs peuvent être invoqués pour expliquer ces modifications. Au cours des procédures, la volatilisation de certains composés peut expliquer une partie de la réduction rapide le premier jour, comme l'ont d'ailleurs observé Simovic et Snodgrass (1985) puis Matthews et Bulich (1986). La première chute rapide de la toxicité peut s'expliquer par la volatilisation du chloroforme présent à 1,8 mg/L dans l'effluent original, ou encore par l'oxydation rapide des composés résineux non-chlorés. Pour évaluer clairement l'importance de la volatilisation, des déterminations de volatils totaux avant et après dégradation devraient être intégrées au test d'évaluation de la persistance.

Parmi les autres facteurs pouvant contribuer à la réduction de la toxicité, mentionnons l'activité de la population bactérienne, le changement de pH et l'adsorption de composés toxiques sur les parois des contenants. Ces Ces aspects sont traités dans les sections qui viennent.

Interaction des bactéries

Randall (1985) a précisé que dans un traitement par boues activées, l'effet sur les microorganismes est fonction du rapport quantité de substances toxiques sur concentration de microorganismes (T/M) plutôt que de la concentration des substances toxiques uniquement. Nos résultats mettent en évidence une augmentation de la concentration des bactéries en même temps

qu'une diminution de la toxicité entre le jour 0 et le jour 4 (Tableau 8). Afin d'évaluer l'importance de l'action des bactéries dans le processus de la réduction de la toxicité, des expériences avec des échantillons stérilisés par filtration (0,22 µm) furent réalisées. Ces essais sont discutés dans les sections concernant les procédures (3) et (4).

pH

L'influence du pH sur la toxicité est discutée en détail à la section 4.4.2. Rappellons simplement qu'il apparait qu'un léger changement de pH fasse varier de beaucoup la toxicité des acides résiniques (EAGL, 1987). Ainsi l'augmentation de pH observée entre le jour 0 et le jour 8 (Tableau 8) a pu contribuer à la réduction de toxicité des solutions vieillies.

Adsorption

Des dépôts de matières en suspension se formaient sur les parois des contenants tout au long de la période d'incubation. Ces composés prennent alors des formes peu disponibles vis-à-vis des microorganismes des biotests. De plus, certains auteurs ont traité de l'adsorption des composés toxiques sur les parois des contenants. Une revue de littérature sur la toxicité des acides résiniques (EAGL, 1987), porte à notre attention que, lors de biotest avec poissons, la toxicité de l'acide résinique déhydroabiétique a souvent été sous-estimée à cause de l'adsorption à la surface des poissons et sur les parois des bassins expérimentaux; la concentration en acide diminuait en 24 h de 31% apparemment à cause de l'adsorption.

Une deuxième série de tests a été effectuée afin de vérifier l'importance de ces facteurs sur la réduction de toxicité observée lors des procédures (1) et (2), par rapport à la dégradation des composés organiques.

Les résultats présentés au tableau 9 mettent en évidence que le niveau de toxicité mesurée avec le Microtox diminue avec le temps et devient non détectable après 4 j d'aération. Ceci est lié au fait qu'au jour 0 la toxicité était déjà très faible (4,5 U.T.) par rapport aux expériences précédentes. La toxicité originale de l'effluent conservé à 0°C a été fortement diminuée à cause du temps de conservation prolongé. Quatre jours plus tard, la toxicité originale avait encore diminué à 3,2 U.T.; néanmoins, cette valeur reste nettement supérieure aux toxicités mesurées après 4 j de vieillissement. Encore une fois, la procédure avec aération présente une diminution plus rapide de la toxicité sans toutefois être significative. Par ailleurs, le carbone organique dissous (COD), les matières en suspensions (MES) et la demande biologique en oxygène (DBO) diminuent avec la baisse de toxicité. Ceci supporte bien l'hypothèse que la toxicité est associée à des composés toxiques organiques.

De plus, parmi les autres facteurs déjà discutés auparavant, mentionnons que le pH n'a pas augmenté, que le nombre de microorganismes a augmenté mais dans une proportion plus faible et que l'on peut supposer que la volatilisation a eu lieu avant le début du test. Aucune différence dans la concentration des métaux dissous n'a été détectée (Annexe II); il n'y a donc ni prise en charge, ni perte par adsorption pendant le vieillissement.

Tableau 9: Suivi de quelques paramètres physicochimiques globaux lors du 2ième essai de vieillissement de l'effluent sans et avec aération.

	PROCÉDURE					
	SANS AÉRATION			AVEC AÉRATION		
	0 j	1 j	4 j	0 j	1 j	4 j
pH	6,8	6,5	6,2	6,8	6,5	6,3
COD (mg/L)	108	99	63	108	69	71
MES (mg/L)	24	-	11	24	-	28
DBO_5 (mg/L)	130	-	46	130	-	37
Bactéries (UFCx10^6/mL)	1,4	1,0	6,2	1,4	1,0	6,0
Toxicité (UT)						
Microtox	4,5	2,6	1,6	4,5	1,7	n.d.

- non échantillonné

n.d.: toxicité non-détectable

Nos résultats sont en accord avec les observations de Rainville et al. (1975) (tiré de Couillard, 1980) qui ont montré qu'après 6 j d'aération, les effluents de type kraft ne sont plus toxiques car les composés sont apparemment oxydés (Couillard, 1980). Dans une autre étude, il a été observé que la quantité d'acides résiniques totaux d'un effluent kraft a été réduite de 72, 79 et 94% lors de temps de rétention respectifs de 29, 58 et 99 h (EAGL, 1987).

Il pourrait être intéressant de faire plus de mesures de DBO afin de les associer aux déterminations de toxicité. Le traitement secondaire permettant une diminution de la DBO, deviendrait d'autant plus important s'il contribuait aussi à diminuer la toxicité de l'effluent. Cependant comme les matières organiques ne sont pas dégradables de façon identique, il conviendrait de faire des déterminations de demande chimique en oxygène (DCO) en relation avec la toxicité. La lignine contenue, par exemple, dans les déchets de pâtes et papiers prend de 90 à 140 j pour s'oxyder (Couillard, 1980). La mesure de DBO_5 n'est pas représentative de la présence de ces composés. LeSauteur en 1967 (tiré de Couillard, 1980) a observé que la DBO dans le milieu naturel revenait à un taux normal à environ 10 milles en aval de la ville d'Ottawa, tandis que pour la DCO, le déficit se faisait sentir au delà de 70 milles en aval.

Comme la concentration des acides résiniques non-chlorés décroit rapidement (quelques jours), ce ne sont probablement pas les seuls composés responsables de la toxicité. En effet, au cours de la première série de tests

effectués sur l'effluent original "frais", une toxicité apparait encore après 8 j d'expérimentation. Celle-ci peut être attribuée à des composés organiques toxiques moins rapidement dégradables tels les acides résiniques chlorés et des composés phénoliques. On peut également soupçonner l'effet de métaux présents dans nos échantillons comme l'aluminium (0,55 mg/L), le chrome (0,033 mg/L) et le zinc (0,13 mg/L) (Annexe II).

b) Effluent synthétique

Les procédures de dégradation sans et avec aération ont été répétées avec l'effluent synthétique qui représentait un effluent à toxicité persistante. Comme prévu, aucune modification de la toxicité n'a été observée après traitement de l'échantillon (tableau 10); la toxicité mesurée est encore identique à la toxicité originale de l'effluent (tableau 7). La procédure d'évaluation de la persistance a servi dans cette expérience à vérifier et à confirmer l'hypothèse de la persistance de ce type d'effluent. Aucun processus de dégradation n'a pu prendre place dans cet échantillon essentiellement de nature inorganique.

Cette expérience a aussi permis de vérifier que les manipulations effectuées pendant le vieillissement (par ex. correction de l'évaporation, brassage) n'entrainaient pas de biais.

Tableau 10: Suivi du pH, du COD, des métaux, des bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox 15 min.) lors du vieillissement de l'effluent synthétique (5%, v/v) sans et avec aération.

PARAMÈTRE	SANS AÉRATION		AVEC AÉRATION	
	0 j	4 j	0 j	4 j
pH	3,2	3,1	3,2	3,6
COD (mg/L)	<0,2	<0,2	<0,2	0,2
Métaux (mg/L)				
Cr	1,07	1,06	1,07	0,964
Cu	0,465	0,468	0,465	0,419
Zn	0,12	0,13	0,12	0,13
Ni	3,4	3,44	3,4	3,31
Bactéries (UFC/mL)	0	0	0	0
Toxicité (UT)*	4,3	5,1	4,3	4,0

* Moyenne de duplicata

c) Reproductibilité des biotests

La reproductibilité a été évaluée à l'aide des coefficients de variation (CV). Pour le test Microrox les CV se situent entre 4.6 et 31% (tableau 8). En fait, les coefficients sont en général inférieurs à 19% à l'exception d'un seul (31%) calculé après 8 j de dégradation. La toxicité étant faible à ce moment, les valeurs d'UT ont été extrapolées (CI50 de plus de 50% v/v).

Pour le test algal, l'ensemble des CV est inférieur à 23%, sauf un de 34% obtenu sur un échantillon ayant subit l'aération durant 8 j. Il semble que plus le temps de vieillissement ait été long, plus les différences entre les triplicats s'accentuent.

d) Concept de la demi-vie

En se basant sur la définition de la persistance de U.S. EPA (Peltier et Weber, 1985), c'est-à-dire que la toxicité de l'effluent est non-persistante lorsque sa demi-vie est plus petite que 4 jours, on peut conclure que cet effluent a une toxicité non persistante. Cependant, si le concept de demi-vie est appliqué dans son sens propre, c'est-à-dire le temps nécessaire pour obtenir une diminution de 50% de la valeur initiale, nos résultats ne permettent pas d'en arriver à une valeur unique; même si la réduction est supérieure à 50% dans les premières 24 h, il n'en est pas ainsi pour les 24 h qui suivent, où les réductions sont inférieures à 50% par rapport aux valeurs qui précèdent.

Dans le protocole d'évaluation de la persistance du U.S. EPA, il est mentionné qu'il est important d'utiliser un effluent "frais" lors du test. Au niveau de l'interprétation des résultats, ceci comporte des conséquences. Si le but est de suivre la toxicité dans le milieu autour d'une zone réduite, voisine du point de rejet, il est, en effet, essentiel d'utiliser l'effluent original. Si, de plus, le but est d'évaluer la toxicité persistante, on ne doit pas se contenter de constater uniquement la première diminution de toxicité pour déclarer l'effluent non-persistant. Il y a alors un risque de minimiser les répercussions des composés toxiques plus persistants lorsque, par exemple, l'effluent contient également des composés toxiques volatils. Dans un tel cas, on assiste à une chute rapide de la toxicité, laquelle ne diminue que très lentement, par la suite. La notion de toxicité non-persistante ne s'applique donc que partiellement dans une telle situation. Ce qui démontre qu'il importe de tenir compte de la valeur finale de toxicité lors des tests d'évaluation de la persistance.

L'interprétation du concept de la demi-vie peut également se compliquer dans le cas où des augmentations de toxicité sont observées. Ce phénomène s'explique par l'apparition de produits intermédiaires toxiques lors de la dégradation comme l'ont observé Matthews et Bulich (1986) avec certains types d'effluents.

On peut donc en conclure que le concept de la demi-vie doit être revu en toxicologie environnementale. La non-persistance devrait plutôt être identifiée à partir d'un critère qui tiendrait compte du temps nécessaire pour

atteindre une toxicité très faible variant par exemple entre 0 et 5 UT. Le danger pour le milieu récepteur serait évalué en fonction de la distance requise dans le cours d'eau pour que la toxicité diminue à ces faibles valeurs.

Potentiel de persistance de la toxicité: Procédures avec "seed" naturel (3) et commercial (4)

a) Effluent de pâtes et papiers

· essais préliminaires Microtox

Lors de ces tests avec le Microtox, trois dilutions ont été expérimentées: 25, 33 et 50% v/v pour identifier la dilution requise de façon à obtenir une CI50 voisine de 20% et permettre à la flore bactérienne de se développer. La dilution de 25%, laquelle a provoqué une inhibition de 19%, après 15 min. (≃ 5 U.T.), fut choisie pour réaliser la première série de tests (tableau 11).

Tableau 11: Toxicité préliminaire (Microtox) de l'effluent de pâtes et papiers.

DILUTION (% v/v)	CI 50 15 min.
25	19
33	17
50	11

- **essais définitifs Microtox et algues**

Série 1

La toxicité mesurée au jour 0 avec le test Microtox est plus faible que prévue avec 2,2 U.T.; et dès le jour 1 elle n'est plus détectable indépendamment de la procédure utilisée (tableau 12). On peut difficilement comparer ces résultats à la toxicité originale, qui passe de 20 U.T. à 6,6 U.T. pendant cette période, car l'effluent a été dilué et la relation entre la toxicité et la concentration en toxiques n'est pas nécessairement linéaire.

Cette réponse très rapide peut être en partie due à un effet de dilution des concentrations en substances toxiques par unité cellulaire entre les jours 0 et 4 à cause de développement de la population bactérienne durant cette période; il se pourrait que la quantité de substances toxiques par cellule ait été différente selon que l'on considère les jours 0 et 4.

Ceci est quelque peu mis en évidence lors des expériences réalisées sur des échantillons filtrés de façon à éliminer les bactéries indigènes dans l'effluent avant d'effectuer le biotest. En effet, alors que précédemment on ne détectait aucune toxicité, on obtient 1,5 UT au jour 4 sur les échantillons filtrés. Cette différence n'est cependant pas significative. Malheureusement nous n'avons pas déterminé la toxicité sur les échantillons filtrés au jour 0.

Tableau 12: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox - 15 min.) durant les procédures de vieillissement de l'effluent (dilué à 25% v/v) avec l'eau de rivière et le "seed" commercial (1er essai).

	PROCÉDURE									
	AVEC RIVIÈRE					AVEC SEED				
PARAMÈTRE	0 j	1 j	3 j	4 j non filtré	4 j filtré**	0 j	1 j	3 j	4 j non filtré	4 j filtré
pH	6,2	6,2	-	6,5		6,2	6,3	-	6,6	
Bactéries (UFCx10^6/mL)	0,5	0,3	1,1	0,6*		0,2	1,3	4,0	7,0*	
Toxicité (UT)	2,2	n.d.	-	n.d.	1,5	2,3	n.d.	-	n.d.	1,7
minimum	1,9	n.d.	-	n.d.	1,4	2,1	n.d.	-	n.d.	1,6
maximum	2,3	n.d.	-	n.d.	1,7	2,5	n.d.	-	n.d.	1,8

* 72 heures d'incubation au lieu de 48 heures

** : échantillon filtré à 0,22 µm

n.d.: non-détectable (sous le seuil de détection)

- : non échantillonné

Il semble que les populations microbiennes dans l'eau de rivière aient manqué de nutriments. En effet, un compte de 1,1 millions UFC/mL après une incubation de 48 h est obtenu après 3 j de vieillissement et un compte de 0,6 millions UFC/mL après 4 j pour une incubation de 72 h (Tableau 12). La présence de débris cellulaires pourrait favoriser l'adsorption des toxiques à leur surface; lors de l'étape de filtration précédant le biotest, ces toxiques seraient retenus sur la membrane et ne serait pas, conséquemment, pris en compte lors du test Microtox.

Un autre aspect peut être questionné, à savoir dans quelle proportion les bactéries provenant de l'eau de la rivière sont responsables de la dégradation observée? On a ajouté une eau contenant environ 2 000 UFC/mL à un échantillon d'effluent qui en contenait environ 400 000 UFC/mL. Malgré une dilution de 25% v/v, il y a environ 2×10^8 UFC en provenance de l'effluent et 3×10^6 UFC en provenance de la rivière. Notre design expérimental ne permet pas de répondre à cette question à cause des temps d'entreposage différents pour les sous-échantillons filtrés et non filtrés lors des deux expériences.

Le test algal n'a pas permis de déterminer des CI 50 à cause de l'inconsistance des résultats. L'hypothèse émise est que les bactéries pouvaient interférer par compétition lors des biotests avec algues. Les tests ont alors été repris avec des échantillons stérilisés par filtration (0,22 µm).

Série 2

Pour cette deuxième série d'expériences, la dilution initiale a été de 50% v/v de l'effluent original (30 U.T.) correspondant au 27ième jour de la figure 5. Encore ici, la toxicité du jour 0 est plus faible que prévue avec 5,4 U.T. et 6,3 U.T. pour les procédures (3) et (4) respectivement (tableau 13). La réduction de toxicité est très rapide et aucune toxicité n'est détectable après 4 jours (figure 4). Cette diminution rapide est associée à une augmentation de la biomasse microbienne dans toutes les solutions (tableau 13).

Dans cette deuxième série d'expériences, les biotests avec algues n'ont pu donner de résultats concluants sur la persistance de la toxicité suite à l'utilisation d'un "seed" bactérien. L'interférence due à l'activité bactérienne serait reliée à ce phénomène.

b) Effluent synthétique

La procédure de dégradation utilisant un seed a été répétée avec l'effluent synthétique. L'ajout d'un seed n'a pas entrainé de modification dans la toxicité de l'effluent (tableau 14). La présence de bactéries a cependant entrainé une baisse dans les concentrations de chrome et de cuivre dissous. Il semble que ces métaux aient été pris en charge par les microorganismes. Par contre le développement de la population bactérienne a été fortement inhibée par la toxicité d'origine métallique et par le manque de substrat.

Tableau 13: Suivi du pH, du nombre de bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox 15 min.) durant les procédures de vieillissement de l'effluent (dilué à 50% v/v) avec l'eau de rivière et le "seed" commercial (2ième essai).

PARAMÈTRE	EAU DE RIVIÈRE			"SEED" COMMERCIAL		
	0 j	1 j	4 j	0 j	1 j	4 j
pH	6,4	6,5	6,4	6,5	6,5	6,4
Bactéries (UFCx10^6/mL)	0,7	3,4	4,5	0,7	5,9	6,8
TOXICITÉ (UT)	5,4	1,8	n.d.	6,3	2,0	n.d.
minimum	4,9	1,4	n.d.	6,0	1,8	n.d.
maximum	5,7	2,1	n.d.	6,5	2,1	n.d.
C.V. (%)	8,2	20	-	4,0	7.7	-

n.d.: toxicité non-détectable

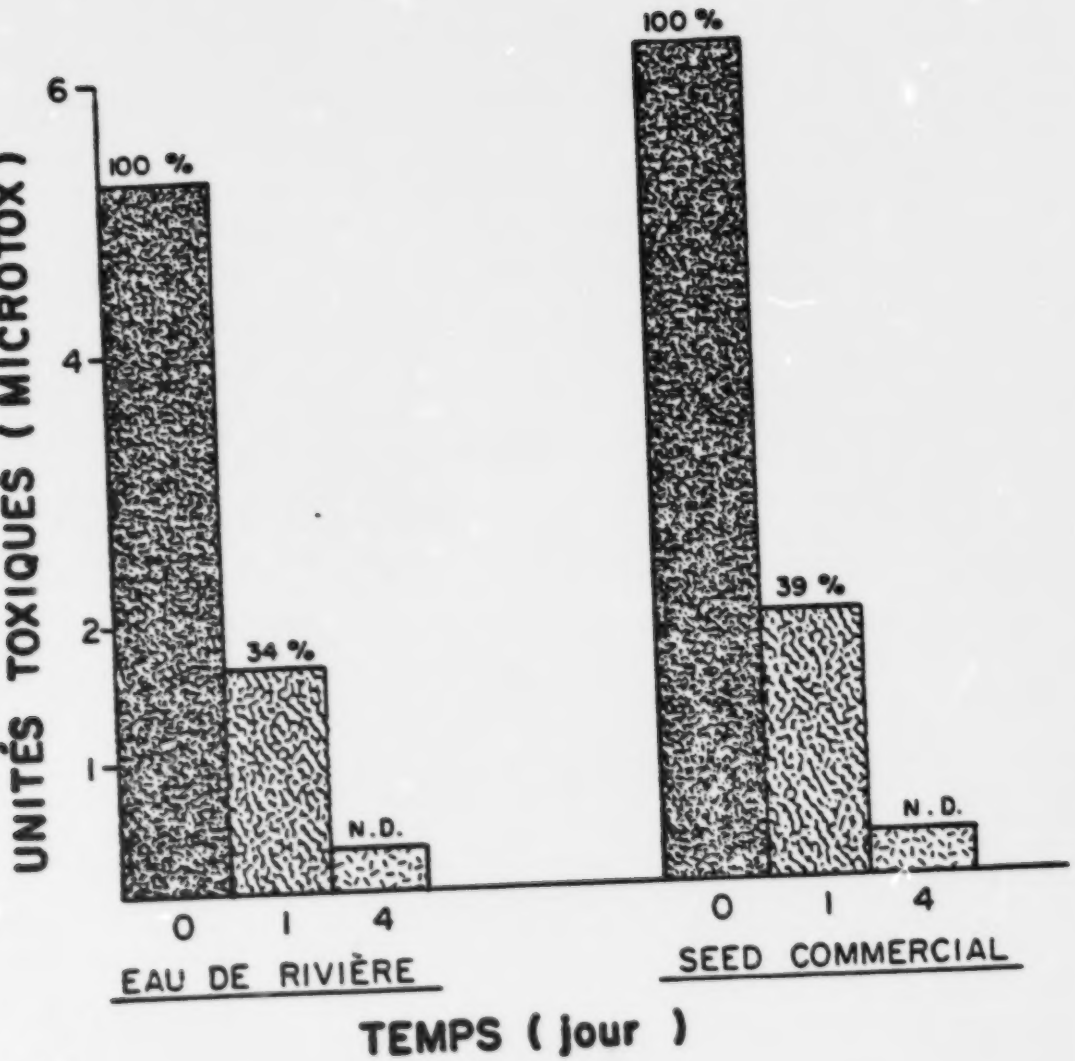


Figure 4: Profil de la réduction de la toxicité (Microtox-15 min) pendant le vieillissement de l'effluent de pâtes et papiers avec les procédures utilisant l'eau de rivière et le "seed" commercial; 2ième essai.

Tableau 14: Suivi du pH, du COD, des métaux, des bactéries hétérotrophes (20°C) et de la toxicité (Microtox 15 min.) lors du vieillissement de l'effluent synthétique (1%, v/v) avec un seed commercial.

PARAMÈTRE	Temps 0 j	4 j
pH	5,7	5,8
COD (mg/L)	< 0,2	< 0,2
Métaux (mg/L)		
Cr	0,223	0,994
Cu	0,114	0,039
Zn	0,03	0,02
Ni	0,70	0,70
Bactéries (UFC/mL)	450	60
Toxicité (U.T.)*	7,7	4,3

* Moyenne de duplicata après filtration des échantillons (0,22 µm).

L'importance de l'étape de la filtration des sous-échantillons contenant du "seed" avant de procéder aux bioessais est encore mise en évidence. Au jour 0 aucune toxicité n'est détectée sur les échantillons non filtrés. Par contre, lorsque ces échantillons sont filtrés, une toxicité moyenne de 7,7 UT est déterminée. Il faudrait également s'assurer qu'une partie de cette toxicité ne soit pas attribuable aux produits d'excrétion des bactéries du "seed" en testant la toxicité d'un filtrat témoin ("seed" sans effluent).

La détermination de l'efficacité de ces procédures pour l'évaluation de la persistance de la toxicité devrait être complétée par des tests sur un effluent complexe et persistant contenant un peu de matière organique.

3.1.6 Conclusions et implications pour la gestion

L'effluent de l'usine de pâtes et papiers de type kraft est un effluent biodégradable; ceci a été démontré par les résultats sur l'activité microbienne qui s'y est développée en même temps que la diminution de la quantité de matière organique. De plus, il peut être classé comme un effluent facilement dégradable car sa toxicité diminue rapidement en employant des procédures simples, sans ajout de seed. Il y aurait intérêt à relier la réduction de la toxicité et la diminution de la DBO dans l'évaluation de la pertinence d'un traitement secondaire.

Le test Microtox est adapté pour déterminer une réduction de toxicité rapide (< 1 h). Ce test demande un faible volume d'échantillon (5 mL) et est

relativement sensible aux toxiques organiques. Par contre, il est limité dans sa capacité à détecter une toxicité résiduelle. Complémentairement, le test algal est utile pour mettre en évidence cette toxicité résiduelle. Malheureusement, ce dernier biotest s'applique mal aux procédures où sont ajoutées des bactéries; leur développement semble interférer avec la croissance algale.

Dans un schéma d'évaluation des dangers, les processus de dégradation, de bioaccumulation, d'accumulation dans les sédiments et de dispersion dans le milieu doivent être pris en compte pour l'évaluation de la persistance. La séquence de procédures testées ici, dont les caractéristiques sont résumées ci-après, permet d'évaluer le potentiel de dégradation d'un effluent ou encore sa persistance dans la colonne d'eau:

1) la procédure SANS AÉRATION évalue le potentiel de dégradabilité (microbien et/ou photochimique) inhérente de l'effluent. Cependant, un résultat négatif ne signifie pas que le rejet est non-dégradable mais plutôt que des conditions plus favorables sont nécessaires (aération, pH, dilution, présence de bactéries, prolongation de la durée d'incubation). Bien que la réduction de toxicité ait toujours été ici inférieure à celle obtenue avec aération, la différence n'est pas significative pour le type d'effluent testé;

2) la procédure AVEC AÉRATION est voisine de la procédure précédente. Elle se rapproche de conditions rencontrées en rivière (aération). Il faut tenir compte de la toxicité finale avant de caractériser un

effluent comme étant non-persistant, et non se baser sur sa valeur de demi-vie.

Cette procédure simule en quelque sorte un traitement secondaire (lagunes aérées). Si la quantité de bactéries indigènes dans l'effluent est forte, il ne s'avère pas opportun de procéder à des expériences avec ajout de "seed" commercial. Par contre, si la présence de ces bactéries n'est pas suffisante pour diminuer la toxicité, l'effluent pourrait être dégradable sous de meilleures conditions (ajout de bactéries, augmentation de la durée de la dégradation..);

3) la procédure utilisant un "seed" naturel du milieu récepteur vient confirmer les résultats de la procédure précédente et vérifie si les conditions du milieu sont favorables à la biodégradation;

4) la procédure utilisant un "seed" commercial permet d'évaluer le potentiel de traitabilité d'un effluent. Elle sera utile si les trois procédures précédentes ont donné des résultats négatifs.

Il reste que ces 4 procédures sont de courtes durées et que certaines substances nécessitent un temps plus long pour être dégradées; des résultats négatifs obtenus avec chacune des approches n'impliqueraient pas systématiquement la non-dégradabilité de l'effluent. C'est ici que ce fait la distinction entre dégradabilité et persistance: si l'effluent nécessite une période de dégradation trop longue (> 4 jours) pour entrainer une réduction significative de la toxicité, on considérera qu'il est persistant. De même, un

effluent industriel dégradable dont la toxicité n'est pas liée aux composés organiques pourra être considéré persistant si la toxicité se maintient dans le temps.

En résumé, les résultats indiquent que l'effluent est dégradable en partie et que sa toxicité est persistante. Les procédures sont assez rapides car elles permettent de caractériser la persistance suite à une expérimentation d'une durée de 4 j. Les différences entre les résultats aux jours 4 et 8 ne sont pas significatives dans la plupart des cas. Les tests sur 4 j nous semblent donc d'une durée appropriée. Les tests effectués après 24 h sont utiles pour suivre le pattern de variation de la toxicité sur une durée plus longue (4 j); les résultats obtenus après 24 h seraient représentatifs des situations où l'effluent subit une dilution rapide dans le milieu.

La réduction de la toxicité en plus d'être reliée à l'oxydation de composés organiques toxiques, peut être associée à divers facteurs comme le pH, la quantité de microorganismes présents, la volatilisation et l'adsorption, la couleur de l'effluent et la température. Quelques améliorations méthodologiques permettront de les contrôler lors des tests pour évaluer la persistance; elles sont décrites dans les recommandations un peu plus loin dans le texte.

Les procédures que nous avons utilisées sont reproductibles sauf au niveau du biotest algal en présence du "seed". Les plus grandes variations sont observées lorsque les échantillons ont subi 8 j de prétraitement avec ou sans seed. Enfin les procédures employées sont simples et ne nécessitent qu'un minimum d'espace et de matériel.

Enfin signalons qu'un test normalisé pour évaluer le potentiel de dégradabilité d'un effluent pourrait consister en une détermination de la toxicité avec et après un test de DBO_5. Cette approche nécessiterait au ministère de l'Environnement du Québec une collaboration étroite entre la chimie et la biologie, les tests devant être effectués simultanément.

Recommandations méthodologiques

1) Pour évaluer l'efficacité des procédures employées ici, il serait nécessaire de les tester sur une gamme d'effluents de caractéristiques et de complexité différentes. Sur chacun d'eux, des paramètres chimiques représentatifs (ex.: acides résiniques pour effluents de pâtes et papiers; métaux pour effluents de placage) devraient être suivis. Par ailleurs, des déterminations de paramètres globaux (DBO, DCO, COD) devraient être réalisées simultanément comme complément d'informations aux déterminations de toxicité.

2) Le pH durant l'expérimentation ne devrait pas être une condition de stress sur la croissance bactérienne.

3) Il est nécessaire d'approfondir l'influence de la population microbienne sur l'expression de la toxicité lors des procédures utilisant des "seed".

4) Une information sur les concentrations en volatils totaux de l'effluent améliorerait la compréhension d'un facteur pouvant intervenir lors de la réduction de la toxicité.

5) Pour les deux types de bioessais, il est recommandé de tenir compte de la couleur de l'effluent (McLeay et al., 1987; Kuivasniemi et al., 1986). Ceci est surtout vrai au niveau du test algal où la couleur foncée d'un effluent peut diminuer la pénétration de lumière et augmenter le pourcentage d'inhibition mesuré.

3.2 Fractionnement

3.2.1 Contexte et problématique

En plus de déterminer la toxicité d'un effluent, il serait pertinent d'en caractériser les éléments contribuant à cette toxicité. La complexité de certaines eaux usées provoque souvent des effets de matrice qui nuisent à l'interprétation des tests de toxicité; en effet il devient compliqué de relier l'effet toxique à une substance précise même si l'on connait les paramètres susceptibles de se retrouver dans l'effluent.

Cette complexité peut être simplifiée d'une part en fractionnant l'effluent (Walsh et Garnas, 1983; Reece et Burks, 1985), ou en neutralisant les composants actifs (Mount, 1984; Fava et al., 1985; MENVIQ, 1986), pour finalement effectuer des biotests sur chacune des fractions. Cette technique se nomme le fractionnement (parfois appelé fractionnation); elle a pour objectif l'identification des principaux composés ou groupes de composés toxiques dans un système complexe.

Le fractionnement est une technique fort utile dans les réseaux de surveillance de la qualité des émissions. En effet, la connaissance de tous les composés dans un effluent revet une importance secondaire dans la caractérisation de sa toxicité (Samoiloff et al., 1983). De plus, l'identification des constituants spécifiques est coûteuse en temps et en argent; par exemple, il est possible d'identifier plus de 1 000 composés dans un échantillon et ce ne sont pas nécessairement les composés aux concentrations les plus élevées qui sont les plus critiques. Ainsi Samoiloff et al. (1983) ont obtenu suite au fractionnement d'un échantillon une réponse toxique de la fraction qui ne contenait aucun des toxiques dits "prioritaires". Cette dernière expérience démontre que sans l'utilisation du fractionnement, l'effet toxique de certains composés peut être négligé.

Il s'avère également important d'identifier les principaux composants actifs qui contrôlent la toxicité d'un effluent pour orienter la recherche d'un mode de traitement. Cette perspective est véhiculée de plus en plus par le U.S. EPA (Mount, 1984).

Le fractionnement chimique est le plus souvent utilisé (Guérin et al., 1979; Samoiloff et al., 1983; Reece et Burks, 1985). C'est d'ailleurs l'approche proposée par le U.S. EPA (Walsh et Garnas, 1983). Deux fractions sont différenciées par extraction sélective; l'une organique, l'autre inorganique. La fraction organique est ensuite sous-divisée en fractions acide, neutre et basique, lesquelles peuvent être subdivisées. Cette approche permet d'obtenir différents niveaux de résolutions dépendemment de la quantité de

sous-divisions effectuées. Son niveau de complexité est cependant plus élevé que celui recherché pour des tests de dépistage.

Les procédures simples n'ont pas le pouvoir discriminant des méthodes précédentes; elles visent cependant à fractionner des catégories de composés (ex.: organiques vs inorganiques, particulaires vs dissous). Des méthodes comme la filtration, la complexation par agent chélateur et l'irradiation aux u.v. sont en effet adaptables au contexte du dépistage de l'origine de la toxicité.

En résumé, le fractionnement donne des résultats rapidement qui servent:

1) à préciser l'origine de la toxicité (ex.: composé organique ou inorganique);
2) à permettre d'orienter le choix d'un traitement pour réduire la toxicité;
3) à démontrer l'intéraction des grands groupes de composés dans un effluent (Parkhurst et al., 1979).

3.2.2 Objectif

L'objectif est d'établir l'origine de la toxicité des deux effluents testés précédemment suite à une filtration et une procédure de neutralisation totale ou partielle des composés inorganiques par l'emploi d'un agent chélateur.

3.2.3 Procédures existantes

Des procédures de fractionnement permettant de dépister l'origine de la toxicité sont énumérées au tableau 15.

Les deux premières études citées ont mis en évidence que la toxicité d'un mélange complexe était diminuée par le retrait de la matière en suspension. Fava et al. (1985) ont montré que les composés les plus toxiques dans une boue activée étaient liés aux solides en suspension puisque la fraction liquide était peu toxique. Leurs techniques ont consisté en une centrifugation suivie d'une filtration (membranes de fibres de verre). Les travaux de Blanck et al. (1983) ont permis de mettre en évidence la toxicité de produits particulaires à l'aide d'une simple filtration; les auteurs questionnent cependant l'adsorption sur le filtre.

L'EDTA (acide éthylène diaminetriacétique) est le composé organique le plus employé dans les procédures de chélation à cause de ses propriétés d'agent chélateur de cations. Une étude concernant un effluent industriel (MENVIQ, 1986), a montré l'importance de bien calculer les concentrations d'EDTA à ajouter afin de neutraliser la majorité des ions bi- et trivalents.

L'irradiation aux u.v permet d'inactiver la fraction organique d'un effluent par l'oxydation de ses composés (Blanck et al., 1983). Signalons cependant que l'application de cette technique nécessite des mises au point avant son application de façon à favoriser la reproductibilité des résultats.

Tableau 15: Techniques de fractionnement pour dépister la fraction toxique active dans un effluent.

PROCÉDURES DE FRACTIONNEMENT	ORIGINE DE LA TOXICITÉ	RÉFÉRENCES
Filtration	Particulaire	Fava et al. (1985) Blanck et al. (1983)
Chélation (EDTA)	Métallique	MENVIQ (1986)
Irradiation (u.v.)	Organique	Blanck et al. (1983)
Entrainement par vapeur	Volatile	Reece et Burks. (1985)
Dosage indirect	Composé ou classe spécifique[1-2]	Van Coillie et al. (1982) Pakhurst et al. (1979)
Théorique	Composé ou classe spécifique[3]	MENVIQ (1986)

[1] Toxicité du nickel (suivi du cuivre, chrome et zinc) d'un effluent d'une usine de placage de métaux (Van Coillie et al., 1982).

[2] Toxicité de l'acidité d'un effluent de l'usine Tioxide Canada Inc. (MENVIQ, 1986).

[3] Toxicité des phénols d'un effluent de l'industrie houillière (Parkhurst et al., 1979).

Les principales difficultés rencontrées inhérentes à la procédure d'irradiation (U.V.) ont été:

1) la nécessite d'ajouter du peroxyde d'hydrogène aux échantillons pour favoriser l'oxydation de la matière organique; cet ajout a entrainé une augmentation de la toxicité des échantillons;
2) un temps d'oxydation trop long (> 6 h) pour les solutions d'effluent de pâtes et papiers ne contenant pas de peroxyde;
3) la modification du pH des solutions irradiées (effluent de pâtes et papiers, eau millipore) qu'elles contiennent ou non du peroxyde);
4) la grande variabilité entre les replicats due à l'emplacement des fioles sous la lampe à ultra-violets. De plus, l'évaporation a due être contrôlée.

Les techniques de fractionnement théorique et par dosage indirect sont très récentes et n'ont été appliquées qu'à trois types d'effluents (Parkhust et al., 1979; MENVIQ, 1986) et Van Coillie et al., 1982. Ces techniques consistent globalement à confronter la toxicité relative d'un échantillon d'eau usée à sa composition chimique. Lors du fractionnement théorique, le rapport des concentrations chimiques de certains paramètres excessifs et des valeurs de toxicité a été calculé puis comparé aux valeurs de toxicité correspondant à chaque paramètre testé individuellement. Le fractionnement par dosage indirect compare la toxicité de l'effluent original avec la toxicité d'un effluent synthétique provenant du mélange des principaux composés susceptibles de se retrouver dans le type d'effluent étudié.

3.2.4 Procédures expérimentées

Deux procédures ont été choisies pour le fractionnement des deux effluents: la filtration et l'ajout d'EDTA. Compte tenu de l'objectif de dépistage précisé plus haut, notre choix est basé sur la simplicité de ces techniques et leur faible coût d'opération.

Fractionnement par filtration

Ces expériences ont été réalisées en même temps que le suivi de la toxicité des effluents conservées à 0°C. Des tests Microtox furent réalisés à différents temps (3,7,13,17,20,24,27,36,56,59,63,66,70 et 76 j), et parallèlement, des sous-échantillons étaient filtrés (0,45 µm) et testés. Les biotests avec algues n'ont pas été utilisés ici, car comme nous l'avons précisé précédemment, ces biotests requièrent une filtration des échantillons pour éviter les interférences lors du dénombrement cellulaire au compteur de particules.

Fractionnement par ajout d'EDTA

Les expériences ont consisté ici à déterminer la toxicité d'échantillons enrichis ou non avec ajout d'EDTA. La quantité d'EDTA a été calculée à partir des concentrations en éléments présents dans l'effluent et répertoriées à l'Annexe II. Mentionnons que, lorsque cette information n'est pas disponible, on doit utiliser des données existantes sur un effluent semblable.

Le calcul de la quantité d'EDTA à ajouter a été fait de la façon suivante:

1) calcul du nombre de moles totales en métaux bi- et trivalents sans tenir compte des teneurs en calcium et magnésium;

2) le nombre de moles d'EDTA nécessaire correspond à une fois et demie la valeur calculée en 1) de façon à tenir compte d'une partie du calcium et du magnésium;

3) le nombre de moles est converti en mg/L.

Les deux biotests ont été effectués suite à des ajouts respectifs d'EDTA de 0, 10 et 25 mg/L pratiqués directement sur des sous-échantillons de l'effluent industriel. Les expériences furent réalisées en triplicats à chacune des concentrations d'EDTA. Le temps entre l'ajout d'EDTA et la réalisation des biotests variait entre une heure et un jour. Avant de commencer les tests, les échantillons étaient conservés à 0°C. Pour le test Microtox, les solutions étaient utilisées sans pré-traitement alors que pour le test algal, elles étaient préalablement filtrées.

Les tests Microtox et les tests avec algues ont été effectués sur l'effluent synthétique sans ajout ou enrichi avec 30 mg/L d'EDTA. Pour les deux séries de tests, la normalité des résultats et l'homogénéité des variances ont été vérifiées avec respectivement les méthodes du Khi-2 et du test de Bartlett. Un test de t pour échantillons non-appariés a été effectué; les différences sont significatives à un niveau de confiance de 95%.

3.2.5 Résultats et discussion

Fractionnement par filtration de l'effluent industriel

Le dosage comparatif de la toxicité avant et après filtration met en évidence l'activité de la fraction particulaire par rapport à la fraction dissoute (figure 5). En effet, le retrait des particules diminue la toxicité de l'effluent; cette différence est d'autant plus importante que l'effluent est "frais". Le test de Student ne pouvait être appliqué sur toute la série de données à cause de la non-homogénéité des variances. Il a été possible de l'appliquer sur les données des 30 premiers jours pour mettre en évidence une différence significative entre les deux fractions. Par ailleurs, la quantité de MES a diminué dans le temps étant respectivement aux jours 0, 36 et 58 de 40, 33 et 24 mg/L. On suppose que c'est la dégradation de la matière en suspension qui a entrainé le rapprochement avec le temps des courbes de toxicité. Cette dégradation est moindre que celle observée à la température de la pièce (section 3.1.5); le développement de la population bactérienne est réduit à une température aussi basse.

La brisure dans les courbes autour du 28e j est concommitante au changement de conditions particulières sous lesquelles les deux contenants requis pour l'expérience étaient conservés. En effet, le deuxième n'ayant pas été ouvert et brassé au cours des 28 premiers jours, il est possible que les bactéries y soient développées moins rapidement, et donc que le processus de dégradation de la matière en suspension ait été retardé.

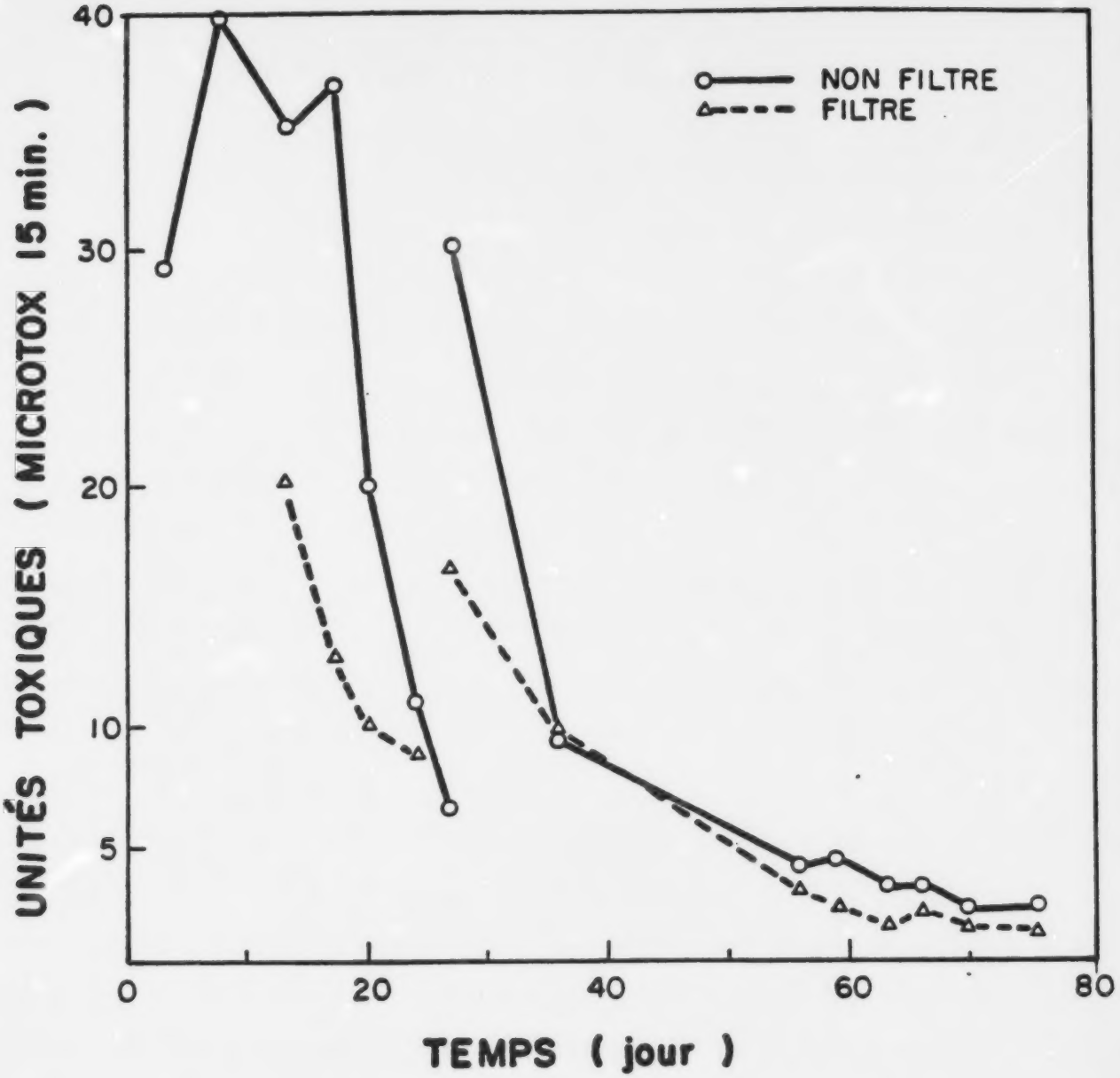


Figure 5: Suivi de la toxicité (Microtox-15 min) de l'effluent de pâtes et papiers conservé à près de 0°C.

Afin de relier clairement la baisse de toxicité au retrait des MES, deux vérifications simples sont recommandées pour améliorer la performance du test:

1) réaliser un test de toxicité à partir du résidu sur le filtre lequel est resuspendu dans un milieu non-toxique; cette toxicité doit être comparée aux résultats obtenus avec un témoin constitué du résidu resuspendu de la filtration du milieu non-toxique sans effluent. Cette opération permet de vérifier les effets de la filtration et de la resuspension en elles-mêmes;

2) réaliser également un test de toxicité sur le résidu resuspendu dans le filtrat pour évaluer la perte d'activité du sous-échantillon suite à son traitement.

Fractionnement par complexation des métaux de l'effluent industriel et de l'effluent synthétique

L'ajout d'EDTA n'engendre aucune différence significative de la toxicité avec le test Microtox (tableau 17). L'origine organique de cette toxicité est à nouveau confirmé pour l'effluent de pâtes et papiers. Par contre, on aurait dû observer une diminution de la toxicité de l'effluent synthétique suite à son enrichissement en EDTA. L'absence de diminution serait attribuable au faible pH (3,4) des solutions testées, ou encore, au peu de sensibilité du test Microtox vis-à-vis les ions métalliques.

Tableau 16: Suivi du pH et de la toxicité lors du fractionnement par complexation des métaux avec l'EDTA.

	EFFLUENT DE PÂTES ET PAPIERS			EFFLUENT SYNTHÉTIQUE (5% v/v)	
EDTA ajouté (mg/L):	0	10	25	0	30
pH	6,4	6,4	6,3	3,4	3,4
Toxicité (UT)					
Microtox					
$\bar{X}$	3,4	3,7	3,2	6,6	5,9
min.	3,1	2,7	2,6	5,9	-
max.	3,8	4,0	4,2	7,1	-
Algues					
$\bar{X}$	-	5,5	5,7	> 1000	> 1000
min.	-	5,3	4,8	> 1000	> 1000
max.	-	5,6	6,7	> 1000	> 1000

- : non échantillonné

> 1000: toxicité trop élevée pour mesurer une CI 50.

Avec le test algues, la toxicité de l'effluent industriel n'est pas modifiée par l'ajout d'EDTA entre 10 et 25 mg/L. Par ailleurs, en se rapportant à la valeur de toxicité originale (7,6 UT: section 3.1.5), et en tenant compte des diminutions après 40 j de conservation (figure 5), on peut assumer que la toxicité n'est pas modifiée par l'EDTA. En conséquence, l'origine organique de la toxicité de cet effluent est fortement suspectée.

L'effluent synthétique engendre une toxicité si élevée que nous n'avons pu déterminer de CI50. Cette toxicité est liée au faible pH, on connait la toxicité des pH < 4 pour l'algue S. capricornutum (U.S. EPA, 1978). Malgré cela, l'ajout d'EDTA a entrainé une diminution du % d'inhibition aux dilutions élevées de la solution d'effluent (effluent 18% = 100% d'inhibition; effluent 1% = 93% d'inhibition) alors qu'aucune diminution du % d'inhibition n'a été observée dans les dilutions sans ajout. Il n'en reste pas moins, que le test avec algues demeure à préconiser pour mettre en évidence la toxicité d'origine inorganique; on connait, en effet, la sensibilité des algues envers les métaux (Rai et al., 1981).

3.2.6 Conclusions et implications pour la gestion

À cause de la rapidité avec laquelle la toxicité peut être modifiée, il est important de procéder rapidement dès la réception des échantillons au fractionnement. Les résultats obtenus lors de cette étape guident en effet le choix des procédures à entreprendre par la suite (ex.: dégradation).

On doit également considérer que le test algal ne prend pas en compte une partie de la toxicité; en effet, étant donné que l'échantillon est préalablement filtré, la toxicité liée aux MES est négligée.

Nos résultats montrent que, malgré le traitement primaire effectué à l'usine de La Tuque, il reste encore une toxicité qui serait associée aux MES; la dégradation de l'effluent au laboratoire a entrainé une diminution des MES et de la toxicité.

Bref, en ce qui concerne l'évaluation des effets dans le milieu, du potentiel de dégradabilité et du potentiel de traitabilité de l'effluent, nos procédures ont mis en évidence l'importance d'expérimenter à partir d'un effluent "frais".

Par ailleurs, les expériences de fractionnement ont fait ressortir que l'évaluation de la toxicité du filtrat, du résidu et de la combinaison des deux fractions améliorerait la signification des résultats. De plus, le test algal serait approprié pour évaluer la toxicité d'origine inorganique à condition de discriminer les effets du pH de ceux de la complexation.

CHAPITRE 4

4. ACTIVITÉ 2: ÉTUDE DE L'INFLUENCE DU MILIEU RÉCEPTEUR SUR LA TOXICITÉ D'EFFLUENTS

4.1 Contexte et problématique

Nous avons antérieurement discuté de l'action de divers facteurs (température, lumière, microorganismes...) sur la toxicité de composés toxiques; parmi ceux-ci, les caractéristiques de l'eau du milieu récepteur sur la toxicité d'un effluent ne doivent pas être négligées. En effet, la biodisponibilité des substances toxiques peut être modifiée lorsque l'effluent vient en contact avec les eaux de surface; les matières en suspension et dissoutes peuvent "détoxifier" certains polluants en particulier les métaux (Sprague, 1985). Ce processus est souvent induit par des réactions de complexation reliées à la présence d'ions inorganiques comme les carbonates et les hydroxydes, ou encore à la présence de molécules organiques naturelles comme les exudats microplanctoniques, les acides humiques et fulviques. D'ailleurs, la toxicité du Cd déterminée en milieu synthétique avec S. capricornutum a été de deux ordres de grandeur supérieure par rapport à celle obtenue dans les eaux de la rivière Saint-Louis avec la communauté microbienne indigène (Couture et al., 1987). De tels écarts peuvent également être mis en évidence lors de bioessais en utilisant comme eau de dilution une eau synthétique et une eau de surface (Horning et Weber, 1985). L'utilisation de diverses eaux de dilution a en effet entrainé des différences significatives

dans des résultats de biotests suggérant l'impact de la composition physico-chimique de l'eau sur l'expression de la toxicité (Allender, 1986; Kuivashiemi et al., 1986; MENVIQ, 1986; Turbak et al., 1986).

Malgré qu'il est souvent recommandé d'utiliser une eau de surface comme eau de dilution (Horning et Weber, 1985; Peltier et Weber, 1985); il est plus simple d'employer un milieu synthétique à cause de la facilité d'approvisionnement, de la normalisation des méthodes et de la comparaison éventuelle des résultats.

Le choix du type d'eau de dilution dépend en fait de l'objectif visé (Horning et Weber, 1985):

- une eau de milieu synthétique (normalisée) est recommandée pour la détermination de la toxicité relative afin, par exemple, de comparer la toxicité des effluents de diverses industries;
- une eau de dilution prélevée instantanément en amont du point de rejet est recommandée pour évaluer la toxicité d'un effluent sur le milieu;
- une eau de dilution provenant de plusieurs échantillons prélevés en amont du rejet est recommandé pour évaluer l'impact des effets additifs de plusieurs rejets sur un tronçon de cours d'eau sur l'expression de la toxicité.

Il est connu que certaines variables "accessoires" généralement contrôlées en laboratoire comme le pH, la température, l'alcalinité et la dureté ont une influence sur la toxicité des composants d'un effluent. Dans un programme d'élimination contrôlée des toxiques, ces composants doivent être distingués de ceux qui génèrent les effets toxiques proprement dit (McLeay et al., 1987). Il est possible de mettre en évidence l'importance des composants "accessoires" en utilisant lors de biotests un milieu synthétique dont les variables "accessoires" s'apparentent à la composition d'un milieu récepteur particulier. De cette façon, on pourra mettre en évidence, par exemple, que le pH est un facteur majeur qui contrôle l'expression de la toxicité, particulièrement pour les usines de pâtes et papiers (McLeay et al., 1987; EAGL, 1987). D'ailleurs, divers rapports ont montré qu'une variation de pH à l'intérieur de la gamme des valeurs caractéristiques des eaux naturelles (6,0 et 9,5) entraine une variation significative de la toxicité létale aiguë d'effluents de pâtes et papiers; la toxicité est minimale de pH 8,5 à 9,5. Cette relation est attribuée à la toxicité des acides résiniques qui sont ionisées à 98% à pH 9 (EAGL, 1987). Il est à noter que presque tous les résultats rapportés en ce sens proviennent de tests de toxicité aiguë avec poissons.

Deux aspects importants ressortent des études portant sur les effets du pH sur les acides résiniques (EAGL, 1987):

a) les bioessais qui sont réalisés sans tenir compte du pH ont peu de signification compte tenu de l'étroite relation entre la forme disponible des acides résiniques et le pH;

b) les critères de qualité des eaux de surface concernant la charge en acides de résine devraient tenir compte de la variation des pH des eaux de surface.

Bref, il nous apparait que l'utilisation d'eau de surface comme eau de dilution pourrait améliorer la signification environnementale des biotests. D'ailleurs, comme le souligne U.S. EPA (1985), une telle approche tient compte de réactions chimiques rapides, comme la complexation, qui surviennent dans la zone de mélange. De plus, mentionnons que les effets antagonistes ou synergiques des composants des eaux de surface sur les composants des effluents sont également considérés. De plus, lorsque l'utilisation d'une eau de surface est problématique, la signification environnementale des biotests peut être améliorée en utilisant le milieu synthétique de laboratoire où sont modifiées certaines caractéristiques physico-chimiques susceptibles de contrôler la toxicité de l'effluent.

4.2 Objectifs

Les objectifs de l'activité 2 se situent dans le contexte de la problématique élaborée plus haut sur l'utilisation des eaux de surface comme eaux de dilution. On a procédé à:

1) évaluer le potentiel de modification de la toxicité relative d'un effluent suite à son mélange avec une eau de dilution;
2) déterminer le rôle du pH comme facteur d'activation dans l'expression de la toxicité;
3) comparer la sensibilité des biotests Microtox et algues.

4.3 Protocole expérimental

Les opérations furent effectuées selon la démarche schématisée à la figure 6. La composition de l'eau de dilution correspond soit à une eau normalisée spécifique pour chaque biotest (Annexe III), soit à une eau de surface. Cette dernière est l'eau de la rivière Saint-Maurice qui a été prélevée en amont de l'usine de pâtes et papiers produisant l'effluent testé. L'eau a été filtrée (0,45 µm) pour éliminer le phytoplancton indigène.

Les biotests ont été effectués en triplicata avec les deux milieux de dilution selon les techniques conventionnelles décrites à la section 2.3. Pour les deux milieux, les tests sur l'effluent de pâtes et papiers ont eu lieu au pH non-ajusté et au pH de l'eau de surface échantillonné, soit 7,1. Quant à l'effluent synthétique (5% v/v) les expériences furent réalisées à pH 3,4 et 5,8. Les ajustements lorsque nécessaires se faisaient avec du NaOH (5% v/v).

Les résultats de toxicité sont exprimés en UT. La moyenne et la variance des triplicata ont été calculées pour chaque condition expérimentale. L'homogénéité des variances a d'abord été vérifiée à l'aide du test de Bartlett, puis l'égalité des moyennes a été testée avec le test de Student pour échantillons non-pairés à un niveau de 95% de confiance.

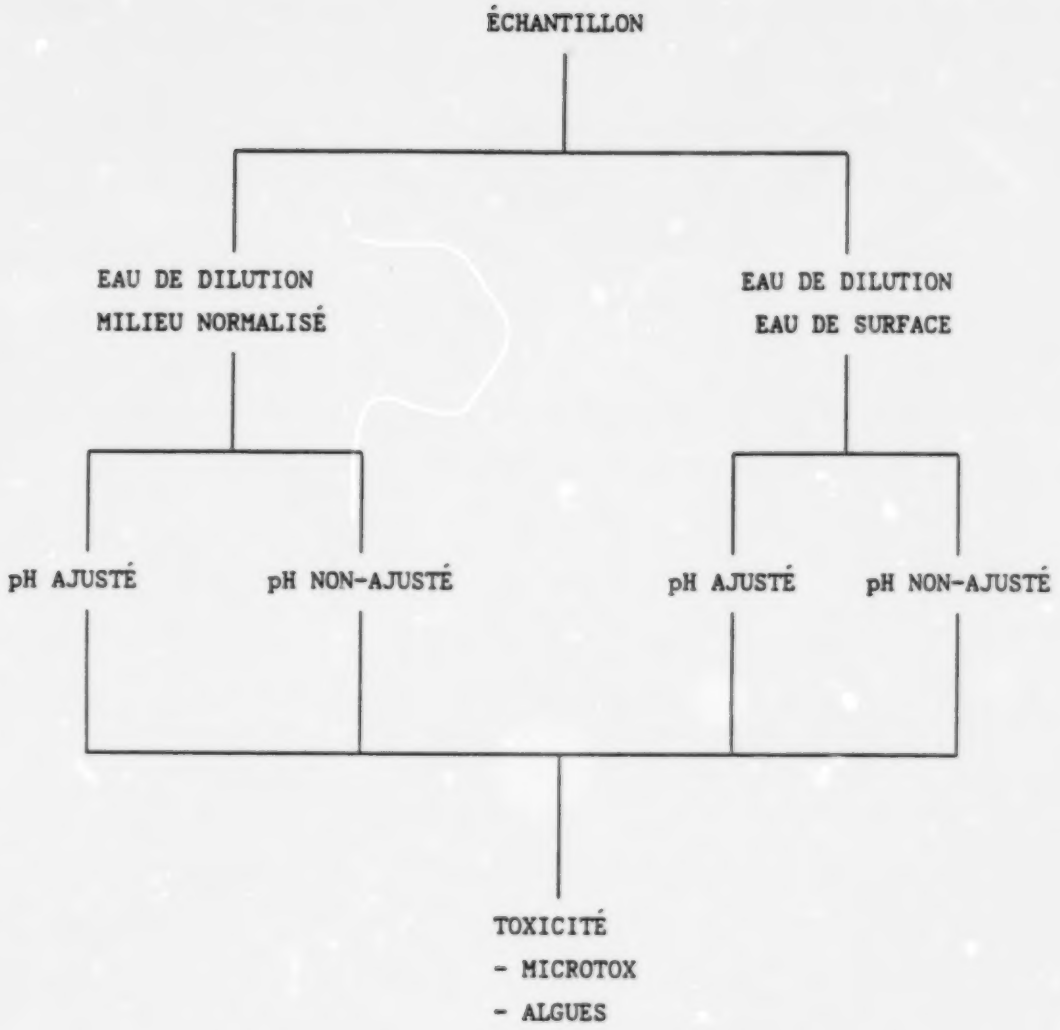


Figure 6: Démarche retenue pour l'évaluation de l'influence de l'eau de dilution et du pH sur la toxicité d'un effluent.

4.4 Résultats et discussion

4.4.1 Influence de l'eau de dilution

Aucune différence significative n'est démontrée entre les valeurs de toxicité obtenues avec les deux eaux de dilution et avec les deux biotests (tableaux 17 et 18). Il semblerait que ces deux types d'eau ne sont pas assez différents pour entrainer une variation de la toxicité de l'effluent; les duretés respectives étant presque identiques. Il serait toutefois intéressant de vérifier l'effet de la variabilité physico-chimique au cours des saisons sur cette toxicité.

4.4.2 Influence du pH

La toxicité de l'effluent de pâtes et papiers avec le test Microtox diminue significativement d'un ordre de grandeur lorsque le pH passe de 5,3 à 7,1 (tableau 17). Ceci indique que lors de son rejet dans un écosystème à pH 7,1, l'effluent aura un effet "réel" beaucoup moins toxique que l'effet prédit par la procédure conventionnelle.

Lors du test avec algues, aucune réduction n'est détectée (tableau 19). Différentes hypothèses peuvent expliquer ce phénomène. (1) Le biotest avec algues est moins sensible aux composés modifiés par ce changement de pH. (2) Comme l'ont mis en évidence les résultats sur le contaminant (chapitre 3), il est possible que les acides résiniques soient dégradés durant l'incubation

Tableau 17: Comparaison de la toxicité (Microtox, 15 min.) de l'effluent de pâtes et papiers en fonction du pH et du type d'eau de dilution.

	EAU NORMALISÉE	EAU DE SURFACE
TOXICITÉ (UT)		
- pH non-ajusté: 5,3		
$\bar{X}$	33	28
plage de variation	25-40	23-32
C.V. (%)	23	15
- pH ajusté: 7,1		
$\bar{X}$	4,2	6,3
plage de variation	3,7-4,7	5,4-7,0
C.V. (%)	12	13

Tableau 18: Comparaison de la toxicité (test algal, 8 jours) de l'effluent de pâtes et papiers en fonction du type d'eau de dilution du pH.

	EAU NORMALISÉE	EAU DE SURFACE
TOXICITÉ (UT)		
- pH non-ajusté: 5,0		
$\bar{X}$	7,6	7,7
plage de variation	6,7-9,1	6,7-8,3
C.V. (%)	17	11
- pH ajusté: 7,2		
$\bar{X}$	7,6	5,8
plage de variation	6,7-9,1	5,6-5,9
C.V. (%)	17	3

8 j. La toxicité résiduelle viendrait dès lors de d'autres substances comme les chlorophénols (Kuivasniemi et al., 1986), des composés moins sensibles au pH. (3) Par ailleurs, il est possible que le pH ne se soit pas maintenu durant la période d'incubation.

4.4.3 Effluent synthétique

Le test Microtox met en évidence que l'augmentation du pH diminue la toxicité jusqu'à la rendre non détectable (tableau 19). Le biotest permet donc de mettre en évidence l'effet du pH sur la toxicité; cependant, il n'est pas assez sensible pour détecter la toxicité résiduelle.

Les expériences avec le test algal sont non concluantes. La toxicité est si élevée qu'il a été impossible de calculer une CI50 pour la gamme de concentrations testées. Mentionnons, une diminution du % d'inhibition pour la dilution la plus forte (1% v/v, soit 0,05% de l'effluent original) suite à l'augmentation du pH, à savoir 100% d'inhibition à pH 3,4 et 77% à pH 5,4.

4.5 Conclusions et implications pour la gestion

Nos résultats supportent que les variations de pH sont davantage déterminants sur les variations de la toxicité des effluents comparées aux variations de la composition de l'eau de dilution. Le pH joue un rôle important sur l'expression de la toxicité de l'effluent organique (pâtes et papiers) ou de l'effluent inorganique (synthétique). Il serait intéressant de pouvoir

Tableau 19: Effet de l'ajustement du pH sur la toxicité de l'effluent synthétique (5% v/v).

	pH NON-AJUSTÉ	pH AJUSTÉ
TOXICITÉ (UT)		
Microtox, 15 min	5,9	n.d.
Algues, 8 jours	ind.	ind.

ind.: indéterminé, toxicité trop élevée

n.d.: non-détectable

vérifier l'applicabilité de cette conclusion à d'autres milieux et à d'autres pH. En effet, il faut considérer que les usines, même si elles utilisent le même procédé de traitement, doivent être considérées en tant que cas indépendant lorsque la toxicité de leurs effluents est évaluée par rapport au milieu récepteur.

Enfin, signalons que le pH devrait être pris en compte dans la définition de critères de la qualité de l'eau, par exemple au niveau des acides résiniques.

Recommandations méthodologiques

- L'eau de surface devrait être échantillonnée au temps de l'année où l'effluent risque d'être le plus dommageable, probablement à l'étiage ou encore lors du choc acide au printemps.
- L'ajustement du pH devra être représentatif de celui de l'eau de surface où est déversé l'effluent. Les biotests devraient être réalisés à l'intérieur de la gamme de pH observée dans ce milieu.
- Si le pH de l'effluent est extrême (i.e. <4 ou >10), on devrait préalablement dilué l'échantillon pour éviter la formation de précipité au voisinage de la neutralité. De plus, cette approche permet de diminuer l'écart de pH lors de l'ajustement. Pour éviter de diluer inutilement l'échantillon, on recommande l'utilisation du modèle MINEQL mis au point par Westall et al. (1976). Ainsi, à partir des concentrations totales en ions majeurs et des valeurs de pH, on

peut évaluer la répartition des diverses formes inorganiques aux différents pH; on détermine ainsi à partir de quelle valeur de pH un précipité risque de se former.

CHAPITRE 5

5. ACTIVITÉ 3: ÉTUDE DE LA RÉPONSE BIOLOGIQUE À LA TOXICITÉ D'EFFLUENTS INDUSTRIELS

5.1 Contexte et problématique

Plusieurs études ont démontré que les algues ont le potentiel d'augmenter leur niveau de tolérance suite à des expositions répétées à des concentrations croissantes en polluant (Antia et Cheng, 1975; Stockner et Antia, 1976; Wang, 1986). Au cours des dernières années, divers processus biochimiques et ultrastructuraux relatifs à la tolérance furent étudiés (Thompson et al., 1987). Stokes (1983) a suggéré que les mécanismes de tolérance pouvaient consister à i) empêcher ou retarder la pénétration d'un métal à l'intérieur de la cellule, ii) exclure le métal de la cellule, et iii) permettre une détoxification par des processus intracellulaires (ex.: désactivation).

Le seuil de tolérance des algues à un toxique quelconque est généralement déterminé par l'exposition directe des cellules à une ou des concentrations assez élevées de ce toxique. À cause de la courte durée des expériences conventionnelles, les effets d'acclimatation sont rarement considérés (Stockner et Antia, 1976). De plus, cette façon de procéder entraine un maximum de stress sur les cellules; elle représente des circonstances particulières où des toxiques sont introduits brutalement dans l'environnement

aquatique (i.e. décharge ponctuelle). En réalité de telles conditions ne sont que transitoires; en effet, les concentrations en aval du point de rejet diminuent graduellement. De plus, il est rare que les concentrations en polluants soient constantes dans un effluent.

De fait, la réponse à court terme (bioessai conventionnel) est significative du potentiel de tolérance "immédiat". C'est une évaluation du danger ou de l'impact dans une zone restreinte autour du point de rejet (Stockner et Antia, 1976). Chez les microorganismes, la capacité de tolérance permet le maintien de la viabilité durant la période critique d'exposition aux substances toxiques et assure la reprise de la croissance au retour des conditions favorables (récupération), ou encore le maintien de la croissance même si les conditions restent difficiles (acclimatation). Les notions de potentiel de récupération et d'acclimatation doivent être considérées dans le contexte de l'évaluation des dangers; elles permettent une évaluation de la réversibilité de l'effet toxique (Sprague, 1985; Kuwabara et Leland, 1986).

5.2 Objectifs

Dans une perspective de dépistage des dangers environnementaux, l'objectif de cette section est de développer un protocole simple et relativement rapide pour évaluer les potentiels de récupération et d'acclimatation de l'algue S. capricornutum afin d'améliorer la signification de la mesure de CI50.

Cet objectif sera atteint en déterminant la réponse des algues à un effluent artificiel dont la toxicité est essentiellement d'origine métallique. À cause de ses caractéristiques de dégradabilité, l'effluent de pâtes et papiers n'a pas été utilisé lors des expériences de récupération et d'acclimatation.

5.3 Procédures existantes

Parmi les procédures développées pour étudier la tolérance chez les algues, nous avons répertorié deux grandes tendances méthodologiques.

La première tendance permet de tester l'hypothèse d'une récupération chez des populations mises en contact avec des polluants puis transférées dans un milieu sain. Par exemple, Thompson et al. (1987) ont mis en évidence la capacité de récupération de l'algue S. capricornutum après que des populations aient été mises en contact avec des concentrations en Cd variant entre 2 et 32 µg/L. Après 24 et 96 h d'exposition, les algues étaient récoltées, concentrées par filtration, resuspendues et immédiatement réinoculées dans du milieu non-contaminé. L'effet de la durée d'exposition sur la récupération a été mis en évidence: la récupération était totale, c'est-à-dire que la croissance était non significativement différente du témoin, pour un temps d'exposition de 24 h. Par contre, la récupération était partielle chez les populations exposées 96 h aux fortes concentrations de cadmium (> 16 µg/L).

Ce même protocole a également été utilisé sur un effluent de chlor-alcali. Après 24 h d'exposition, la récupération n'est pas observée aux concentrations d'effluents > 4%. Par contre, la récupération a lieu chez les populations ayant été en contact durant 96 h. Les auteurs expliquent cette situation par la perte de chlore et/ou un certain degré d'acclimatation acquis durant les 96 h d'exposition.

La deuxième tendance méthodologique est utile pour tester l'hypothèse d'une acclimatation. Ces méthodes consistent à exposer préalablement les algues à des concentrations de polluants avant d'en déterminer leur toxicité. Ainsi par exemple, Stokes (1983) ont observé que les algues provenant de milieux chroniquement pollués étaient plus résistantes que des souches de laboratoire ou encore que les mêmes espèces provenant de milieux non perturbés.

5.4 Procédures expérimentées

Préparation de l'effluent et conditions de culture

Compte tenu du caractère très toxique de l'effluent synthétique (section 3.1.5), trois concentrations sous-létales ont été identifiées par la réalisation des tests de récupération et d'acclimatation, à savoir 0,1%, 0,05% et 0,03% v/v de l'effluent. Ces solutions ont été préparées à partir d'une solution stock de l'effluent à 1% v/v enrichi avec du milieu AAP pour éliminer l'effet d'une déficience en éléments essentiels (Joubert, 1980). Le milieu AAP sert également comme milieu de dilution lors de la préparation des différentes

concentrations de solutions. Les pH ont été ajustés avec du NaOH (5%). Immédiatement après l'ajustement, le pH des solutions variaient entre 6,3 et 6,5; après 12 h, les pH se situaient entre 6,7 et 7,2. L'ajustement du pH de solution n'ayant aucun pouvoir tampon reste très problématique.

Les conditions d'incubation étaient sensiblement les mêmes que celles des tests conventionnels (section 2.3.2). Lors de ces biotests, seuls les volumes des solutions (400 mL dans des erlenmeyers de 2 L) et la concentration initiale en cellules (10^4 cellules/mL) variaient.

Procédure expérimentale

Les diverses étapes expérimentales sont présentées à la figure 7. À divers intervalles (0, 3, 6, 24, 48, 72, 96, 144, 192 h) durant les 8 j d'incubation, la densité cellulaire a été déterminée au compteur de particules.

Après 24, 48, 96 et 192 h d'exposition, une partie de la population fut prélevée et concentrée par filtration. Ces populations ont été dénombrées au compteur électronique et immédiatement réinoculées dans des erlens de 125 mL contenant 25 mL de milieu AAP non contaminé pour les expériences de récupération. En ce qui concerne l'acclimatation, il y a une prolongation de la durée de l'exposition des algues au polluant, avec un renouvellement de la solution après 96 et 192 h pour les trois concentrations (0,1, 0,05 et

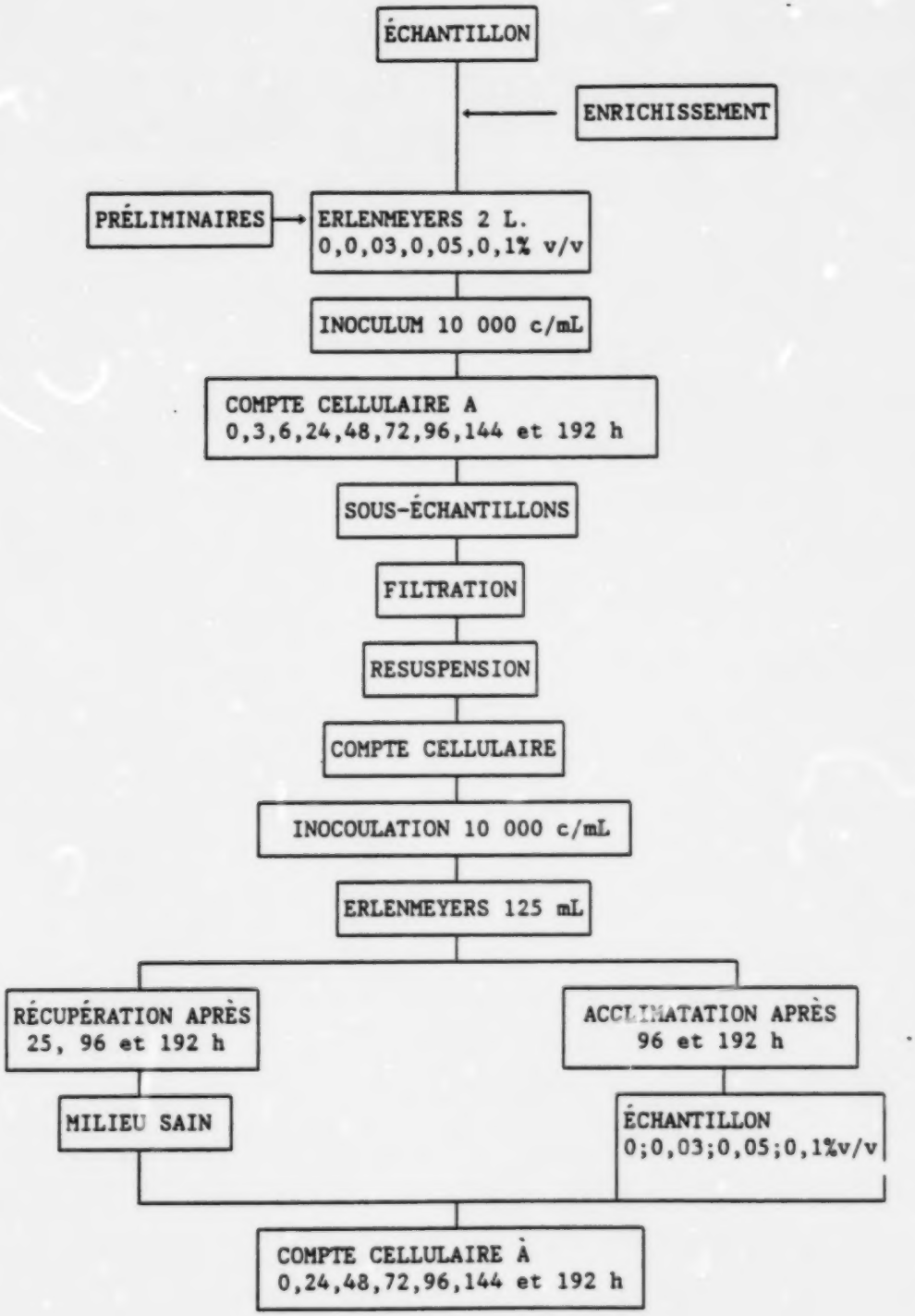


Figure 7: Démarche retenue pour l'évaluation des potentiels de récupération et d'acclimatation des organismes biologiques.

0,03% v/v) testées. Un témoin non contaminé a subit les mêmes manipulations. La concentration des inocula était de 10^4 cellules/mL.

Après le transfert, aussi bien lors des expériences de récupération que d'acclimatation, l'exposition avait lieu dans les mêmes conditions d'incubation. Les dénombrements ont aussi été effectués après 0, 24, 48, 72, 96, 144 et 192 h d'incubation. Une dernière série expérimentale a été réalisée parallèlement aux procédures décrites précédemment. Des biotests conventionnels ont été effectués avec trois types d'inoculums. Le premier était formé d'algues non-acclimatées et les deux autres, d'algues acclimatées à 0,03 et 0,05% v/v d'effluent. Ces algues ont été récoltées à la fin des deux séries expérimentales pour l'acclimatation. Les triplicats pour chacune des concentrations ont été mélangés, homogénéisés, puis concentrés par filtration. Les organismes étant possiblement acclimatés au polluant, la concentration nécessaire pour inhiber 50% de la croissance algale devrait être plus élevée par rapport à la CI50 des algues non-acclimatées.

Analyses statistiques et présentation des résultats

Afin de normaliser la distribution des données, les valeurs furent transformées en leur expression logarithmique. La normalité et l'homogénéité des variances ont été vérifiées, avec les tests de Khi-2 et de Bartlett respectivement.

Les valeurs de toxicité furent caractérisées en identifiant "la plus forte concentration n'occasionnant pas d'effet" (NOEC)[1] et "la plus faible concentration testée causant un effet significatif (LCSE)[2]. Pour les fins du présent travail, seuls les NOEC seront présentés.

La technique utilisée pour calculer ces valeurs consiste à comparer la moyenne des témoins avec la moyenne de chaque traitement selon le test statistique du Dunnett; on établit ainsi les traitements qui entrainaient des différences significatives par rapport au contrôle. Zar (1974) (tiré de Adams et al. 1985) mentionne qu'une procédure de comparaison multiple doit être adoptée car il est généralement inapproprié d'effectuer une série de tests sur des groupes de deux échantillons (test de Student par exemple) puisque l'on augmente l'erreur à chaque hypothèse testée.

La comparaison multiple de Dunnett est précédée par une analyse de variance à un critère indiquant s'il est nécessaire d'effectuer le test. Les tests statistiques furent effectués à l'aide de programmes informatiques. Pour chaque concentration testée, on détermine si la différence par rapport au témoin est significative à 95% de probabilité. Pour chaque groupe de données, on précise également la plus petite différence significative. Les comparaisons furent appliquées aux données de 0, 24, 96 et 192 h. Les valeurs de NOEC ont été précisées selon la procédure de Adams et al. (1985).

---

[1] NOEC: No Observed Effect Concentration

[2] LCSE: Lowest Concentration with Significant Effect

5.5 Résultats et discussion

5.5.1 Exposition: effets sur la croissance

À la figure 8 sont représentés les dénombrements cellulaires des populations exposées aux trois concentrations de polluant et des témoins.

Le dénombrement cellulaire est le même pour toutes les concentrations jusqu'à 24 h d'exposition. Des différences significatives sont observées entre 24 et 48 h. À partir de 96 h, le test de Dunnett met en évidence des différences significatives pour toutes les concentrations. La plus faible concentration d'effluent testée (0,03%) présente sensiblement les mêmes taux de croissance que le témoin avec cependant des densités cellulaires plus faibles. À une concentration de 0,05%, la durée de la phase latente des cultures augmente; une prolongation de la période d'exposition aurait peut-être permis à cette population d'algues d'atteindre une biomasse semblable à celle du témoin. À la concentration de 0,1% d'effluent, le taux de croissance est inhibé durant les 8 j d'exposition; de plus, on observe une diminution du nombre d'algues entre le 6ième et le 8ième j. Cette concentration ne permet pas le maintien de la viabilité des cellules.

Les valeurs de NOEC sont compilées au tableau 20. Toutes les concentrations testées produisent un effet significatif par rapport au témoin en tout temps. Il est possible d'en déduire qu'une faible dilution de l'effluent dans le milieu (aussi faible que 0,03%) produira un impact sur les

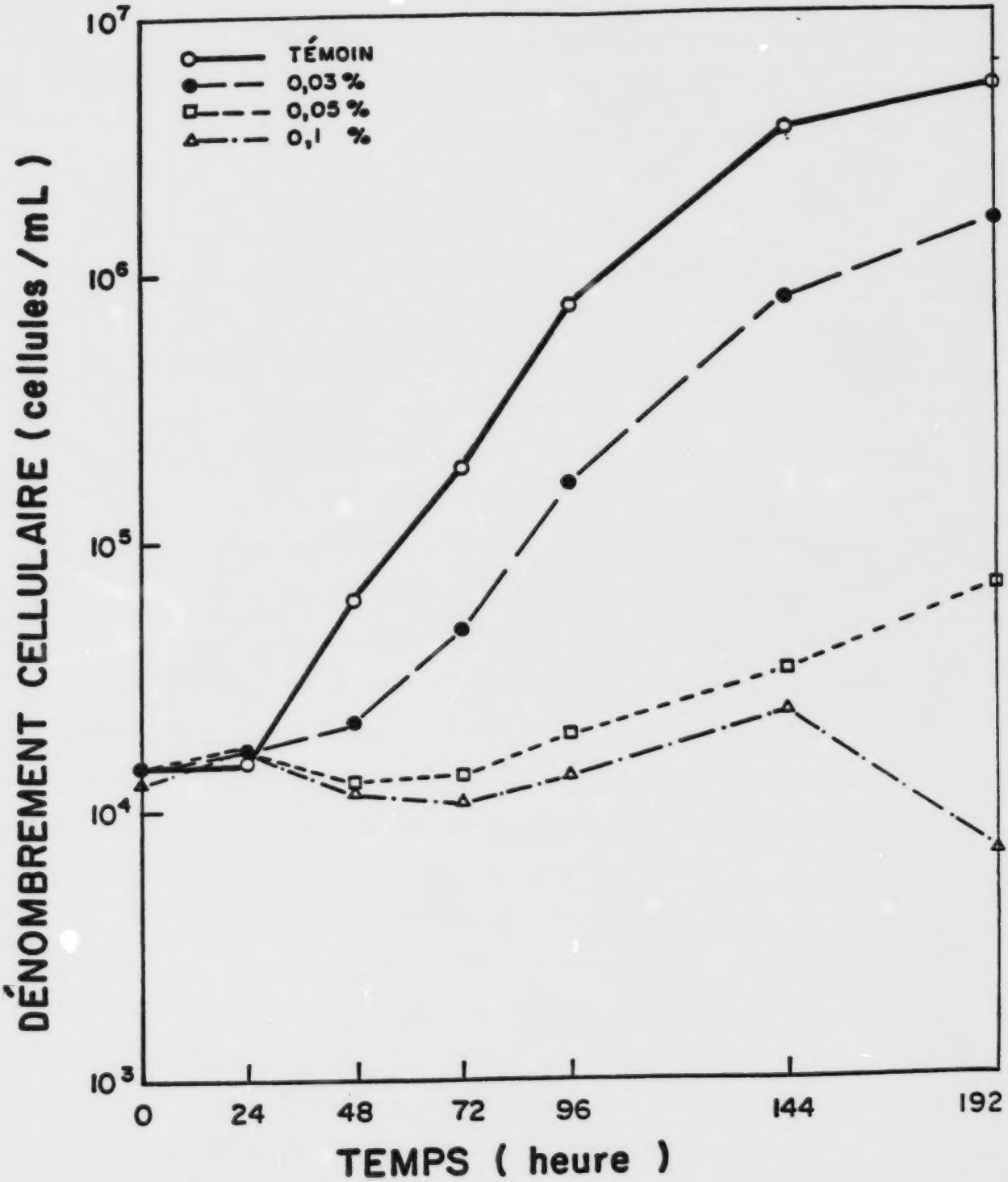


Figure 8: Exposition des algues à l'effluent synthétique.

Tableau 20: Concentrations (%) maximales testées n'entrainant pas d'effet significatif (NOEC) sur la croissance algale.

TYPE D'EXPÉRIENCE	0 h	24 h	96 h	192 h
A) Exposition	0,05	0,1	-	-
B) Récupération				
24 h d'exposition	0,05	-	0,03	0,05
48 h d'exposition	0,05	-	0,03	0,05
96 h d'exposition	0,1	-	0,03	0,05
192 h d'exposition	0,05	0,03	0,03	0,05

Au temps 0, la présence de valeurs est liée aux différences de densité cellulaire dans les inoculum.

- : tous les traitements sont significativement différents du témoin.

populations algales indigènes lors d'une exposition ponctuelle des algues au polluant.

5.5.2 Récupération

Après 24 h d'exposition

Le test de Dunnett met en évidence une légère différence entre les inocula de départ, mais elle n'est pas assez importante pour se répercuter sur la biomasse ultérieure des populations (figure 9a). Des différences significatives par rapport au témoin apparaissent à toutes les concentrations au temps 24 h jusqu'à 96 h d'incubation en milieu sain. Après 96 h d'incubation, la NOEC se situe à 0,03%. À cette concentration, il n'y a plus de différence significative par rapport au témoin. Après 8 j de récupération, seule la plus forte concentration (0,1%) demeure significativement différente (NOEC = 0,05); une reprise de la croissance est cependant observée. Bref, l'exposition durant 24 h à l'effluent synthétique permet une réversibilité significative des effets toxiques lorsque les populations sont réinoculées en milieu sain.

Après 48 h d'exposition

Le pattern de récupération des algues exposées à l'effluent durant 48 h est voisin de celui observé précédemment (figure 9b); et les valeurs de NOEC sont les mêmes. Il faut cependant signaler que les populations soumises à 0,1% d'effluent récupèrent moins bien.

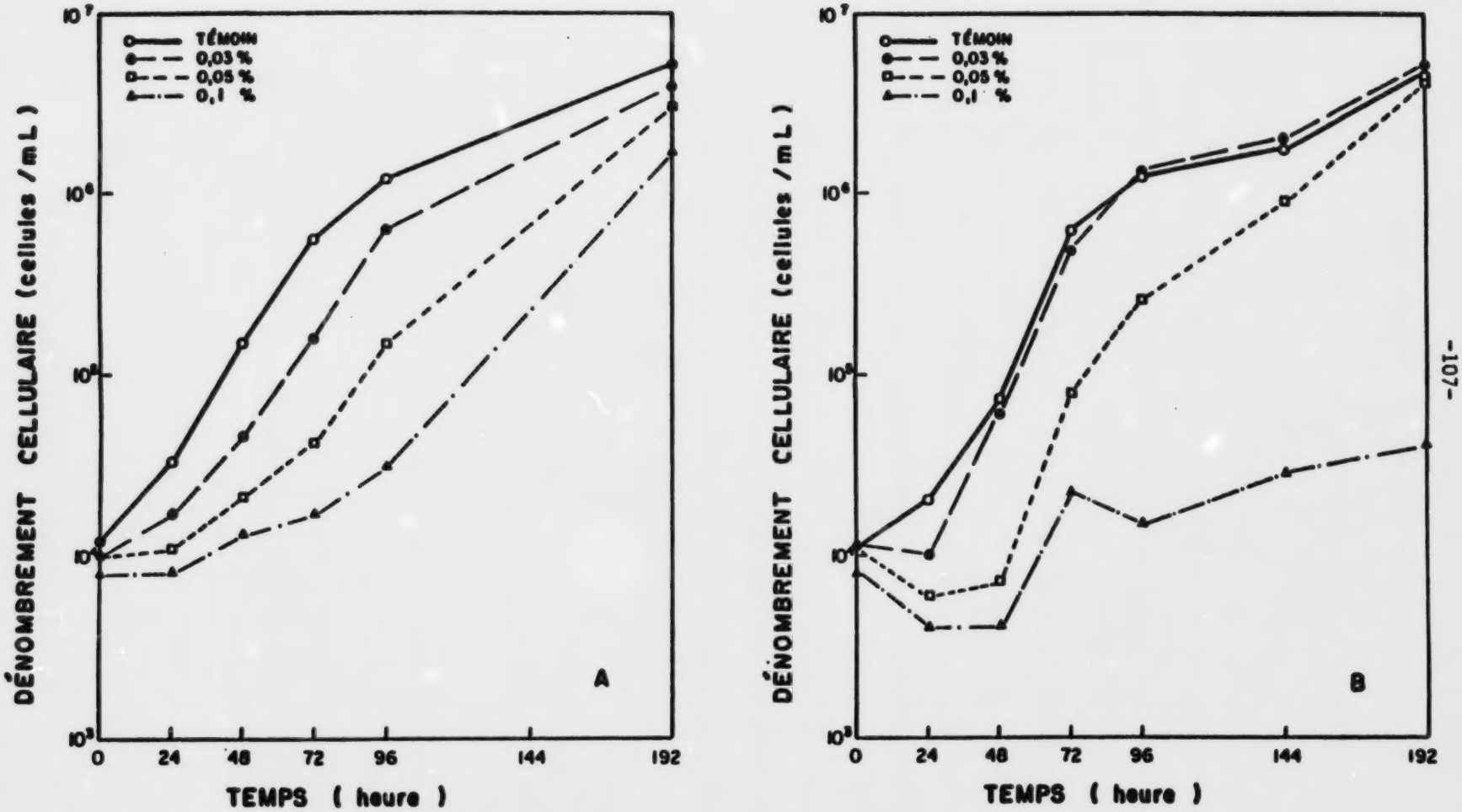


Figure 9: Récupération des algues en milieu sain après (a) 24 heures d'exposition, et (b) 48 heures d'exposition.

Après 96 h d'exposition

Aucune différence significative n'est observée avec les inocula de l'expérience de récupération sur les populations exposées durant 96 h (figure 10a). Les mêmes NOEC sont mesurées après 96 h et 192 h. Comme le suggèrent Adams et al. (1985) il serait plus réaliste de comparer les NOEC obtenues après 96 h d'incubation plutôt que celles obtenues après 192 h. En effet, après 192 h la population algale du témoin atteint généralement une phase stationnaire et l'écart diminue entre les traitements et le témoin; les valeurs de NOEC mesurées après 192 h deviennent alors différentes de celles mesurées après 96 h. Ainsi après 96 h seule la concentration de 0,03% soutient une croissance algale identique à celle de la population témoin. Les populations exposées à la concentration de 0,05% d'effluent nécessitent une période de latence plus longue pour rejoindre le témoin. Ces populations pourront néanmoins récupérer dans le milieu si les conditions saines se maintiennent pendant plus de 4 jours.

Après 192 h d'exposition

Les mêmes valeurs de NOEC ont été obtenues. De plus, aucune récupération n'est observée suite à l'exposition des populations à 0,1% d'effluent. Il semble que la viabilité de ces populations ait été fortement perturbée car aucune reprise de croissance n'est observée.

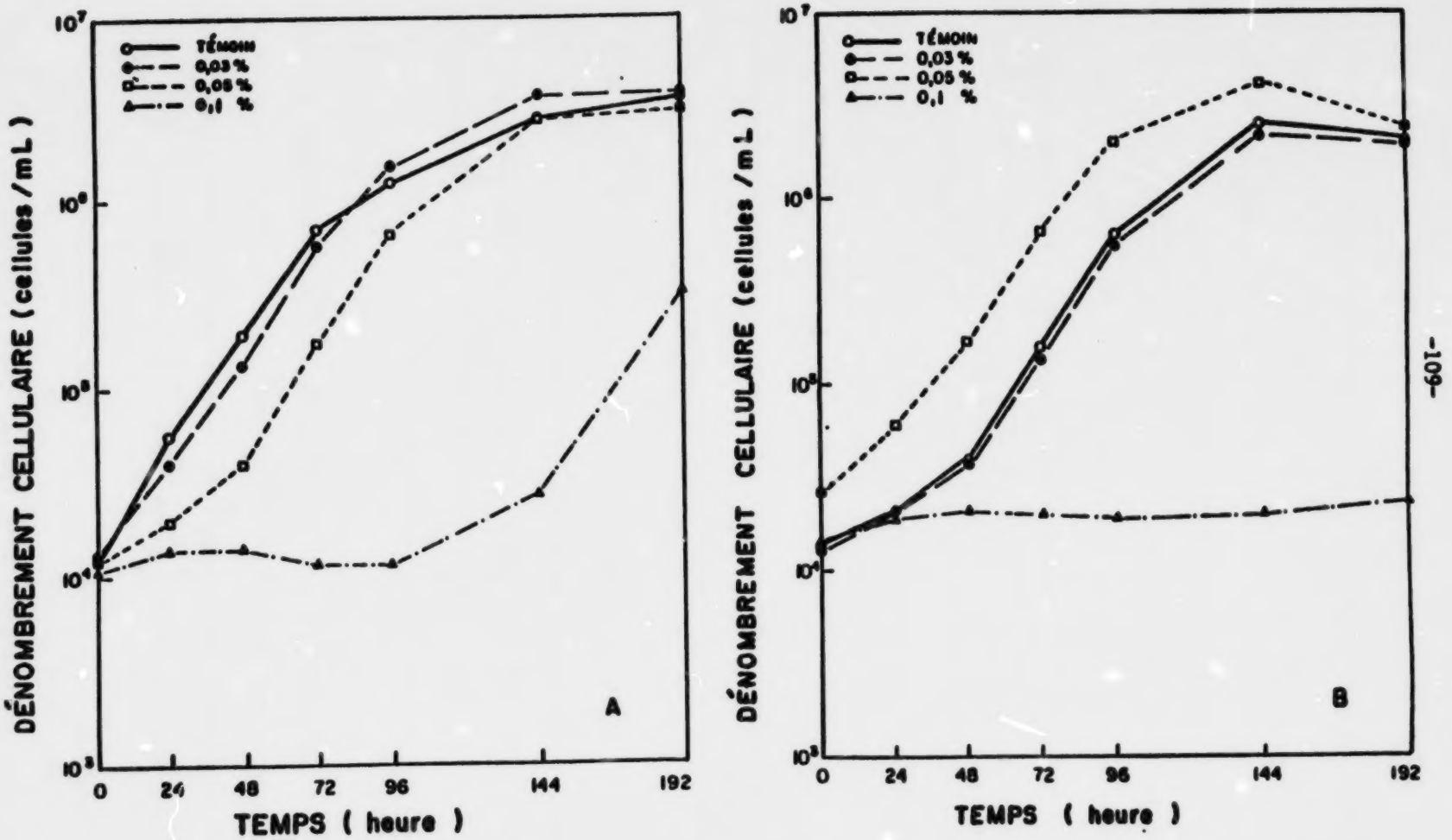


Figure 10: Récupération des algues en milieu sain après (a) 96 heures d'exposition et (b) 192 heures d'exposition.

5.5.3 Acclimatation

Les figures 11a et 11b illustrent les courbes de croissance avec des populations algales préexposées durant 96 et 192 h à l'effluent. À la figure 11a les populations exposées à 0,03% d'effluent ne sont plus significativement différentes du témoin à partir de 96 h. En effectuant une comparaison de ces résultats avec ceux de la figure 8, où les populations exposées restaient significativement différentes des témoins tout au long de l'incubation, on peut conclure que les populations se sont acclimatées à une concentration d'effluent de 0,03%. D'ailleurs la NOEC passe à 0,03% à 96 h (tableau 21). La densité cellulaire à 0,05% d'effluent reste plus faible que celle du témoin à 0,05% d'effluent; toutefois, la croissance est supérieure par rapport aux expériences avec des algues non-acclimatées (figure 8). L'exposition à 0,1% démontre aucune acclimatation des populations.

Toutes les populations préexposées durant 192 h à l'effluent demeurent significativement différentes du témoin tout au long de l'exposition. Cette différence peut être attribuable (1) à la prolongation du temps de contact avec le polluant ou (2) à un inoculum où les cellules algales étaient déjà affectées par le polluant (figure 8 à 192 h).

Les cultures traitées semblent atteindre leur phase stationnaire à un niveau de densité cellulaire inférieure à celle du témoin. Ainsi une population d'algues exposées chroniquement à une concentration aussi faible que 0,03% d'un effluent d'une usine de placage verra sa croissance perturbée.

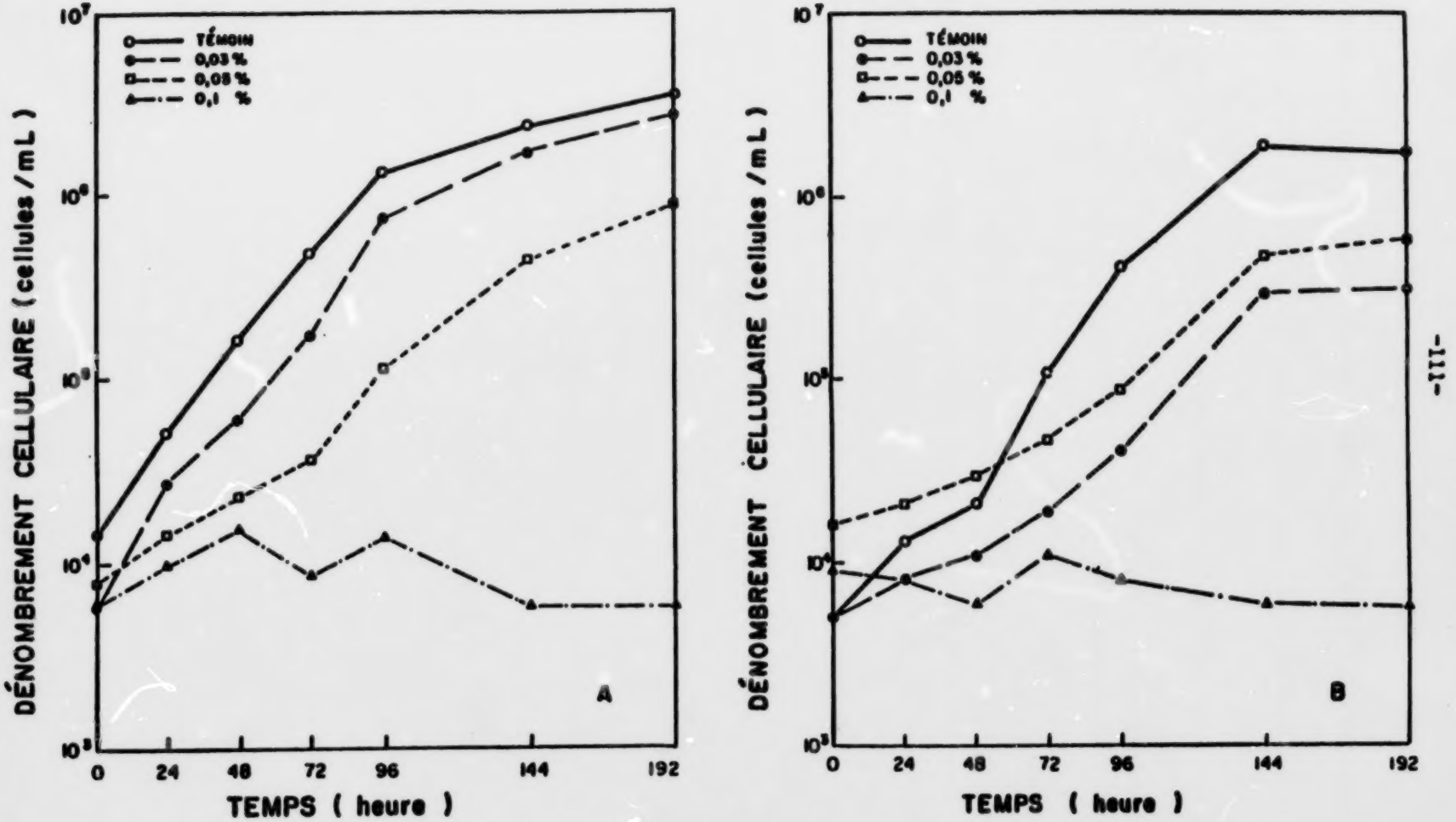


Figure 11: Courbes de croissance des algues repiquées en milieux contaminés après (a) 96 heures de pré-exposition et (b) 192 heures de pré-exposition.

Tableau 21: NOEC pour les tests d'acclimatation aux temps 0, 96 et 192 h.

	NOEC (%, v/v)			
	0	24	96	192
0 h d'acclimatation	0,05	0,1	-	-
96 h d'acclimatation	-	-	0,03	0,03
192 h d'acclimatation	0,03	*	-	-

- : tous les traitements sont significativement différents du témoin.

* seul le traitement à 0,05 n'est pas significativement différent du témoin dû à un inoculum de départ plus élevé que dans les autres traitements.

Comparaison des UT calculées avec populations acclimatées vs populations non acclimatées

L'utilisation des CI50 ou de leur expression en UT n'a pas permis de caractériser le potentiel d'acclimatation des algues (tableau 22). Aucune diminution de la toxicité de l'effluent à 0,1% n'est observée, quelles que soient les populations d'algues ayant servi d'inoculum, et quelle que soit la période d'exposition utilisée pour induire l'acclimatation.

Rappelons que pour chaque détermination de CI50, le test conventionnel a nécessité 10 dilutions de l'effluent 0,1%. Notons que parmi ces dilutions on retrouve les concentrations de 0,1, 0,056 et 0,032% approximativement correspondantes aux concentrations auxquelles les algues furent exposées précédemment.

Si on compare les % d'inhibition obtenus à ces concentrations, on observe qu'ils diminuent avec l'augmentation des concentrations auxquelles les populations furent exposées (tableau 23). La durée de l'exposition ne semble pas avoir d'effet. Il semble donc que la diminution du % d'inhibition n'est pas assez forte pour produire un changement significatif sur l'expression de la toxicité déterminée par une CI50.

Tableau 22: Détermination de la toxicité (UT) de l'effluent (0,1%) à partir de tests réalisés avec des algues acclimatées à différentes concentrations de l'effluent synthétique.

PRÉEXPOSITION	CONCENTRATION D'ACCLIMATATION (% v/v)		
	0	0,03	0,05
aucune	3,2	-	-
de 96 h	4,5	3,3	3,2
de 192 h	3,6	5,0	3,3

Tableau 23: Inhibition (%) pour les concentrations 0,1, 0,05 et 0,03 d'effluent avec les populations d'algues acclimatées.

TYPE D'EXPÉRIMENTATION	CONCENTRATION RELATIVE (% v/v) BIOTEST CONVENTIONNEL		
	0,1	0,056	0,032
PRÉEXPOSITION DE 96 h À:			
0 %	100	95	64
0,03 %	100	98	53
0,05 %	100	86	49
PRÉEXPOSITION DE 192 h À:			
0 %	100	95	55
0,03 %	100	90	55
0,05 %	100	75	50

5.6 Conclusions et implications pour la gestion

Le degré de réversibilité de la toxicité a été mis en évidence par l'utilisation d'un protocole simple où, après un temps d'exposition à un effluent toxique, les microorganismes récupèrent en milieu sain. Le protocole simule une exposition transitoire à un toxique et précédant un retour à des conditions favorables. Il a été possible d'évaluer, en fonction du temps d'exposition, la concentration d'effluent pour laquelle une récupération chez les microorganismes est envisageable. Cette concentration peut être exprimée en terme de "concentration maximum testée ne créant pas d'effet" sur les microorganismes après le retour à des conditions saines; cette dernière pourrait être comparée à la NOEC déterminée lors de l'exposition à l'effluent. Mentionnons que les valeurs de NOEC ont permis de détecter et de quantifier le potentiel d'acclimatation des algues, alors que les valeurs de CI50 ne semblaient pas assez sensibles.

Dans une perspective de dépistage des dangers, l'application de ce concept sur un nombre plus diversifié d'effluents permettrait au gestionnaire d'évaluer les teneurs tolérables d'un effluent lors d'un rejet accidentel, d'un nettoyage de la machinerie, ou encore au cours des pics journaliers de grande production. Il faut également considérer que les impacts environnementaux ne sont pas uniquement fonction de la concentration mais aussi de la durée et de la fréquence des rejets. Les critères de qualité de l'eau définis à partir de données de toxicité aiguë et chronique doivent être maintenus dans le milieu; parfois ils seront dépassés. La fréquence et la durée de ces dépassements

auront un impact sur les organismes indigènes. Il sera utile pour le gestionnaire de déterminer le potentiel de récupération des organismes suite à ces dépassements. La procédure d'évaluation du potentiel d'acclimatation permet d'obtenir les résultats essentiels à la détermination du critère de toxicité chronique (NOEC et LCSE). En effet, la toxicité chronique est définie comme étant la concentration à laquelle les organismes peuvent être exposés indéfiniment sans subir d'effets néfastes. La détermination de la concentration en deça de laquelle il n'y a pas d'acclimatation possible, permet d'améliorer la qualité de nos résultats.

Les potentiels de récupération et d'acclimatation deviennent dès lors des paramètres non négligeables dans la détermination d'un critère de qualité.

Recommandations méthodologiques

Pour la détermination du potentiel d'acclimatation, une méthode de comparaison multiple qui détermine une "concentration sans effet", ou encore une méthode permettant de définir la "concentration la plus faible qui donne un effet observable", est préférable à une méthode nécessitant une interpolation, comme c'est le cas pour la détermination d'une CI50.

Nous avons observé que les valeurs de NOEC calculées à partir des densités cellulaires variaient dans le temps. Une comparaison des différentes approches pour calculer cette valeur a montré que l'aire sous la courbe est une méthode plus sensible que le dénombrement ou le taux de croissance (Adams et

al., 1985). Nous recommandons l'utilisation de cette méthode qui n'est pas affectée par la transformation logarithmique des données.

CHAPITRE 6

6. ANALYSE GLOBALE DES DÉMARCHES ADOPTÉES ET CONCLUSION

6.1 Sommaire

L'approche actuelle pour évaluer et contrôler la toxicité des effluents industriels porte principalement sur les substances toxiques considérées individuellement. Une telle démarche a permis de définir des critères de qualité spécifiques pour la protection de la vie aquatique. Ces critères reflètent la meilleure connaissance que l'on a sur chaque substance d'intérêt. Cependant, il est plutôt rare qu'une substance soit rejetée seule dans l'environnement. Cette façon de gérer les rejets toxiques ne tient pas compte du devenir de la toxicité dans le milieu récepteur. Des effets de synergisme et d'antagonisme peuvent avoir lieu entre les constituants de l'effluent et même avec les composantes du milieu récepteur. Les dangers encourus par les phénomènes de persistance et d'accumulation (physique et biologique) ne sont pas évalués. Ces critères peuvent alors être critiqués quant à leur signification environnementale et leur capacité à évaluer les dangers et les risques environnementaux.

Le biotest conventionnel est utile pour caractériser la toxicité relative d'un échantillon complexe. Il tient compte de la biodisponibilité des composants toxiques de l'échantillon et de leurs interactions. Il est possible d'utiliser les résultats obtenus d'un tel test pour déterminer la charge

toxique tolérable d'un effluent en tenant compte du facteur de dilution du rejet par rapport au milieu. Il reste qu'il ne faut pas chercher à rattacher une signification environnementale aux résultats d'un biotest seul et comme pour une approche spécifique, il est nécessaire d'intégrer la réponse dans un cadre spatio-temporel.

L'intégration de procédures de caractérisation permettent d'explorer cette dimension spatio-temporelle et de ce fait, d'améliorer la signification environnementale des biotests en réponse à des préoccupations du gestionnaire.

En effet, l'ampleur d'une pollution doit être évaluée à l'égard du devenir de la toxicité de l'échantillon, car celle-ci peut être modifiée et elle peut développer des effets insoupçonnés. Les résultats obtenus avec les procédures de dégradation/persistance et de fractionnement peuvent être utiles à l'intérieur d'une démarche de dépistage des dangers. Ils ont mis en évidence:

1) le potentiel de dégradabilité de l'échantillon d'effluent de pâtes et papiers;
2) l'origine principale (organique) de la toxicité d'un tel effluent;
3) le caractère non-toxique à court terme des sous-produits de dégradation de l'échantillon;
4) la persistance possible de la toxicité de l'effluent de pâtes et papiers malgré sa haute dégradabilité, avec le test algal;
5) le potentiel de traitabilité de l'effluent de pâtes et papiers par des traitements biologiques.

Aussi, une évaluation de l'étendue et de la durée de l'exposition peut être donnée par l'évaluation de la persistance. En fonction du temps de dégradation nécessaire pour atteindre une valeur de toxicité sécuritaire et en fonction des taux de dilution dans le milieu et de la distance potentiellement parcourue par les substances pendant ce laps de temps, il deviendra possible pour le gestionnaire de déterminer les dangers associés à la persistance de la toxicité de l'effluent.

L'ampleur d'une pollution doit aussi être évaluée en regard du milieu récepteur parce que celui-ci agit sur la disponibilité des composants de l'échantillon. De plus, des réactions de synergisme ou d'antagonisme, par interactions avec les composantes du milieu (caractéristiques chimiques, effets de plusieurs rejets sur un même tronçon de cours d'eau) peuvent avoir lieu. Les résultats obtenus avec les procédures sur le milieu récepteur ont mis en évidence que:

1) la toxicité de l'échantillon de pâtes et papiers n'est pas modifiée par les composantes du milieu (rivière St-Maurice);
2) le pH joue un rôle déterminant dans l'expression de la toxicité pour ce type d'effluent.

Finalement, l'ampleur d'une pollution doit aussi être évaluée en regard de la réaction biologique, parce que les organismes développent inévitablement des mécanismes de compensation face à une agression toxique. Ainsi, les résultats des procédures de récupération et d'acclimatation ont mis en évidence:

1) la concentration maximale à laquelle les organismes peuvent récupérer lorsqu'ils se retrouvent en milieu sain;

2) l'effet de la durée d'exposition sur la capacité des organismes à récupérer;

3) la concentration limite au-dessus de laquelle aucune acclimatation n'est possible;

4) l'utilité de formuler les valeurs de toxicité en termes de NOEC et de LCSE plutôt qu'en termes de CI ou CL50 pour l'évaluation d'une concentration protectrice pour les organismes.

6.2 Intégration dans une démarche d'évaluation des dangers

Une approche intégrée d'évaluation de la toxicité est essentielle pour une gestion améliorée. La figure 12 résume cette approche. Le choix des procédures de caractérisation de l'effluent est fonction du type d'effluent étudié et du type d'information recherché par le gestionnaire. Ce dernier pourra décider, à chacune des étapes de la figure 12, s'il y a lieu, ou non, de procéder aux tests. Par exemple, il ne sera pas nécessaire d'exécuter les procédures de dégradation si l'effluent à l'étude est de nature inorganique.

La première étape du dépistage devrait porter sur la capacité assimilatrice du plan d'eau. Les bioessais en milieu contrôlé réalisés en laboratoire ou in situ, devraient utiliser l'eau recueillie en amont du point de rejet comme eau de dilution. Si la toxicité de l'effluent est significativement modifiée par l'utilisation de l'eau du milieu récepteur dans

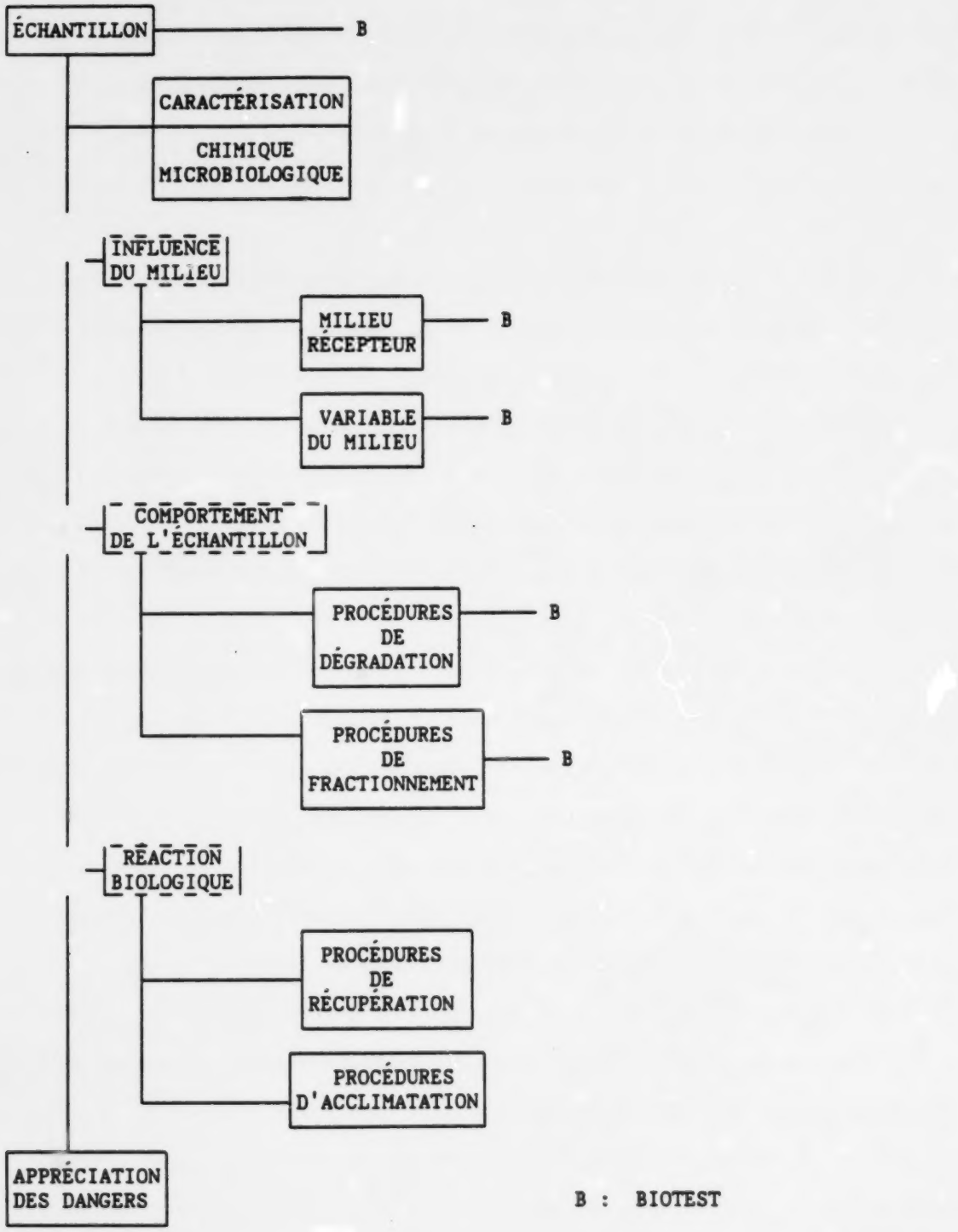


Figure 12: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'effluents industriels.

les tests, cette eau servira d'eau de dilution dans les tests subséquents. De plus, les bioessais en laboratoire devraient permettre de tester des conditions où la température, la teneur en oxygène dissous, la dureté et le pH varieraient de la même façon que dans les eaux réceptrices.

La deuxième étape consiste à évaluer le devenir du contaminant dans le milieu. Les procédures de fractionnement permettent de déterminer l'origine principale de la toxicité et définira la nécessité d'effectuer les procédures de dégradation si la toxicité est d'origine organique. Les procédures d'évaluation de la persistance sont choisies en fonction des conditions hydrauliques du milieu pour l'utilisation d'aération, et de la quantité de microorganismes déjà présents dans l'effluent pour l'utilisation d'un "seed".

Finalement, s'il est démontré que l'effluent est persistant, le potentiel d'acclimatation des organismes exposés à long terme sera évalué de façon à obtenir une valeur de toxicité représentative de l'effet réel subi par les organismes. Aussi, l'intensité, la durée et la fréquence d'exposition à un rejet toxique non-persistant ou intermittent, permettant la récupération des organismes, peuvent être évaluées à l'aide des procédures de repiquage en milieu sain pour des temps et des concentrations données.

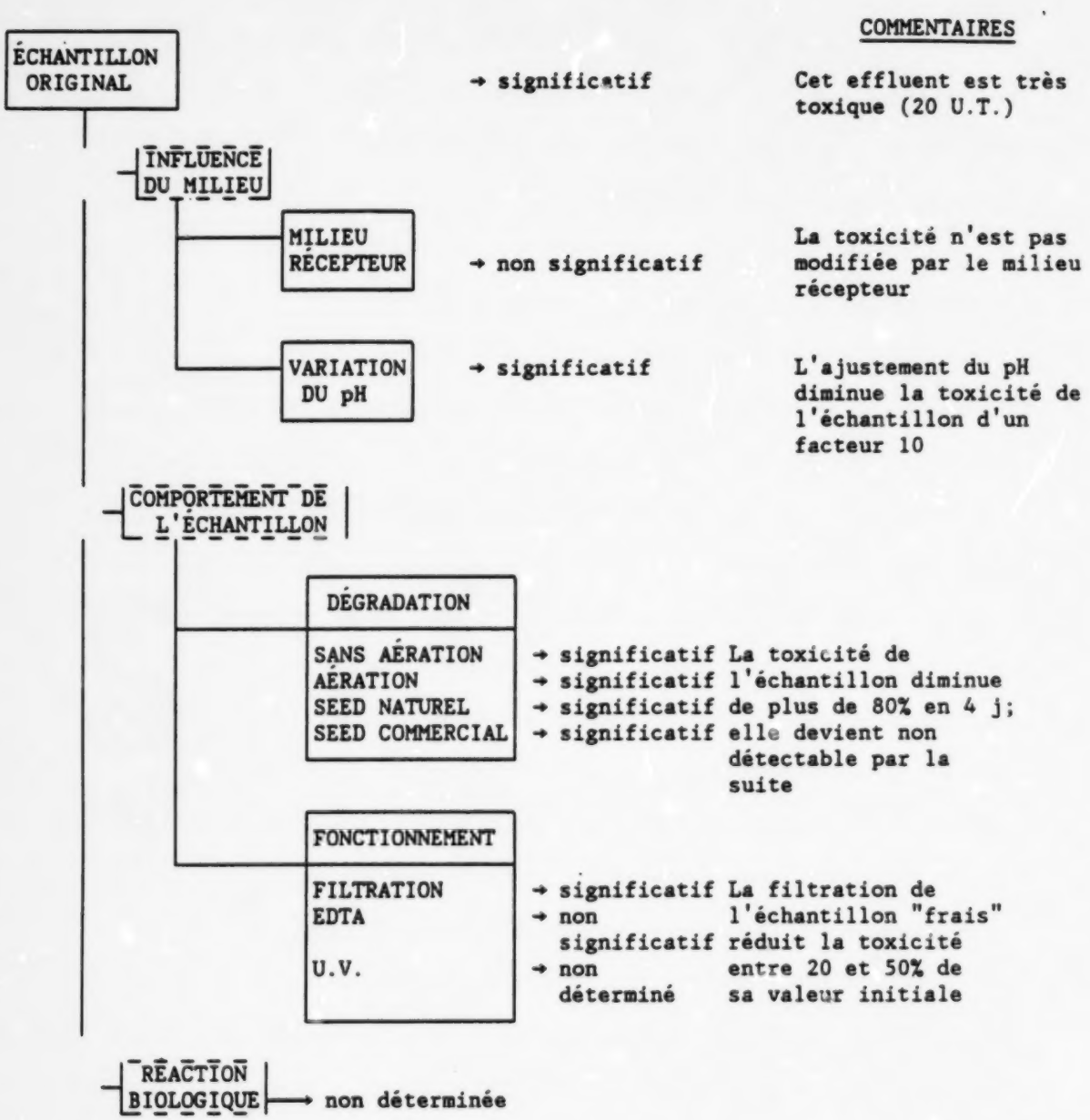
Les résultats obtenus avec un effluent dégradable et un effluent persistant nous permettent d'illustrer cette démarche.

Les figures 13 à 15 résument les sources d'informations complémentaires à la toxicité originale, générées par l'approche intégrée. Les résultats sont exprimés selon qu'ils ont été ou non significatifs lors de l'application des procédures.

La figure 13 illustre les résultats obtenus avec le test Microtox et l'effluent de pâtes et papiers. Cet effluent est toxique (toxicité originale) et cette toxicité est fortement dépendante du pH des eaux réceptrices qui le reçoivent. La toxicité est principalement d'origine organique comme le démontre les procédures de fractionnement par filtration et par complexation; il y a donc lieu de procéder aux procédures de dégradation. Celles-ci montrent le potentiel de dégradabilité inhérent élevé de l'échantillon. Vu sa haute dégradabilité, il n'a pas été nécessaire d'exécuter les procédures de récupération et d'acclimatation des organismes.

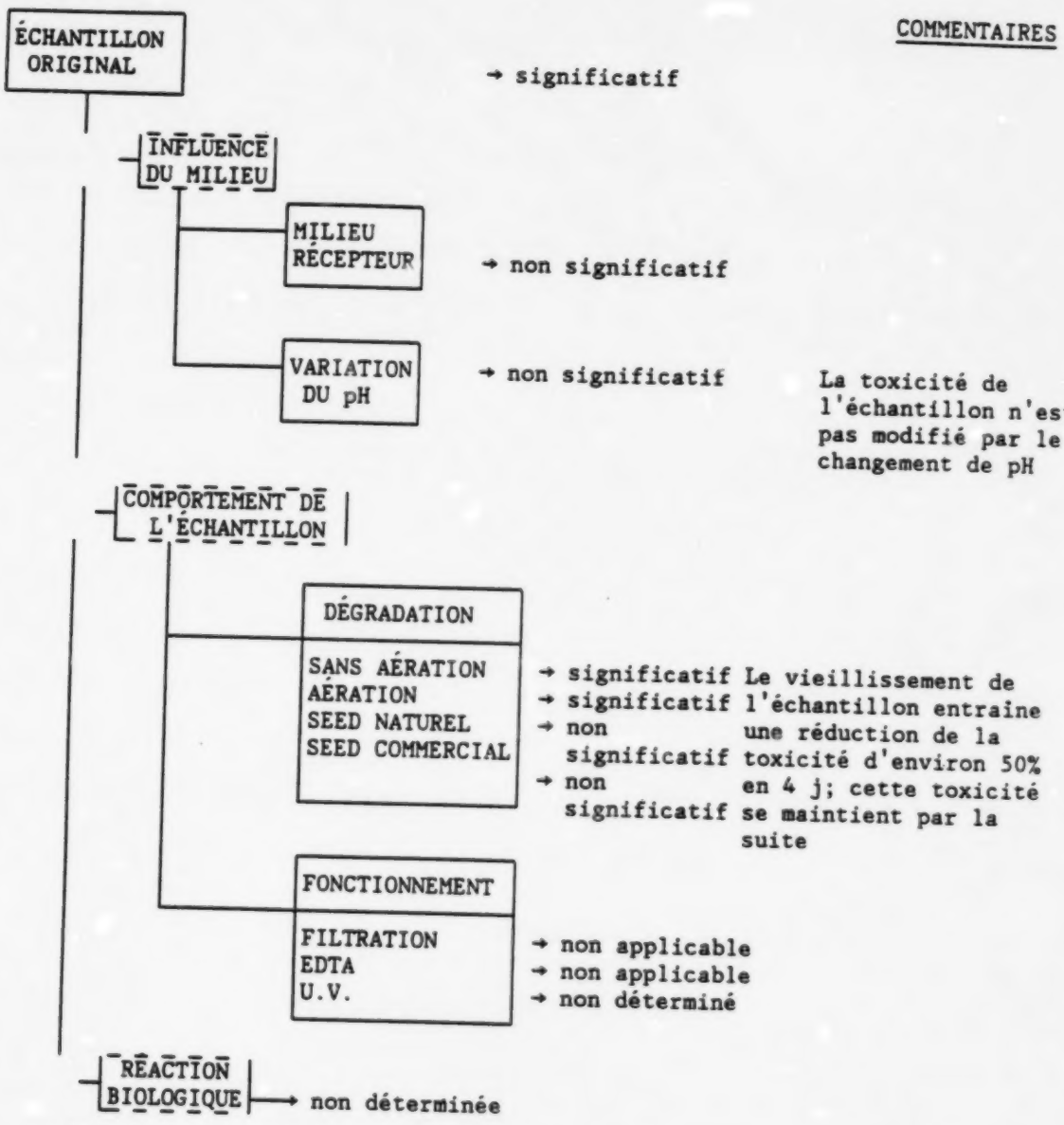
La figure 14 illustre les résultats obtenus avec le test algues et l'effluent de pâtes et papiers; elle complète les informations décrites précédemment par la détection d'une toxicité résiduelle persistante.

La figure 15 illustre le cas d'un effluent persistant, dont la toxicité est aussi fortement reliée au pH. Il n'aurait pas été nécessaire d'effectuer les procédures de dégradation, puisque l'on est en présence d'un effluent uniquement métallique. Par contre, les procédures d'évaluation de la capacité des organismes à récupérer et/ou à s'acclimater à un tel type d'effluent devient prioritaire. Elles permettent de définir la concentration



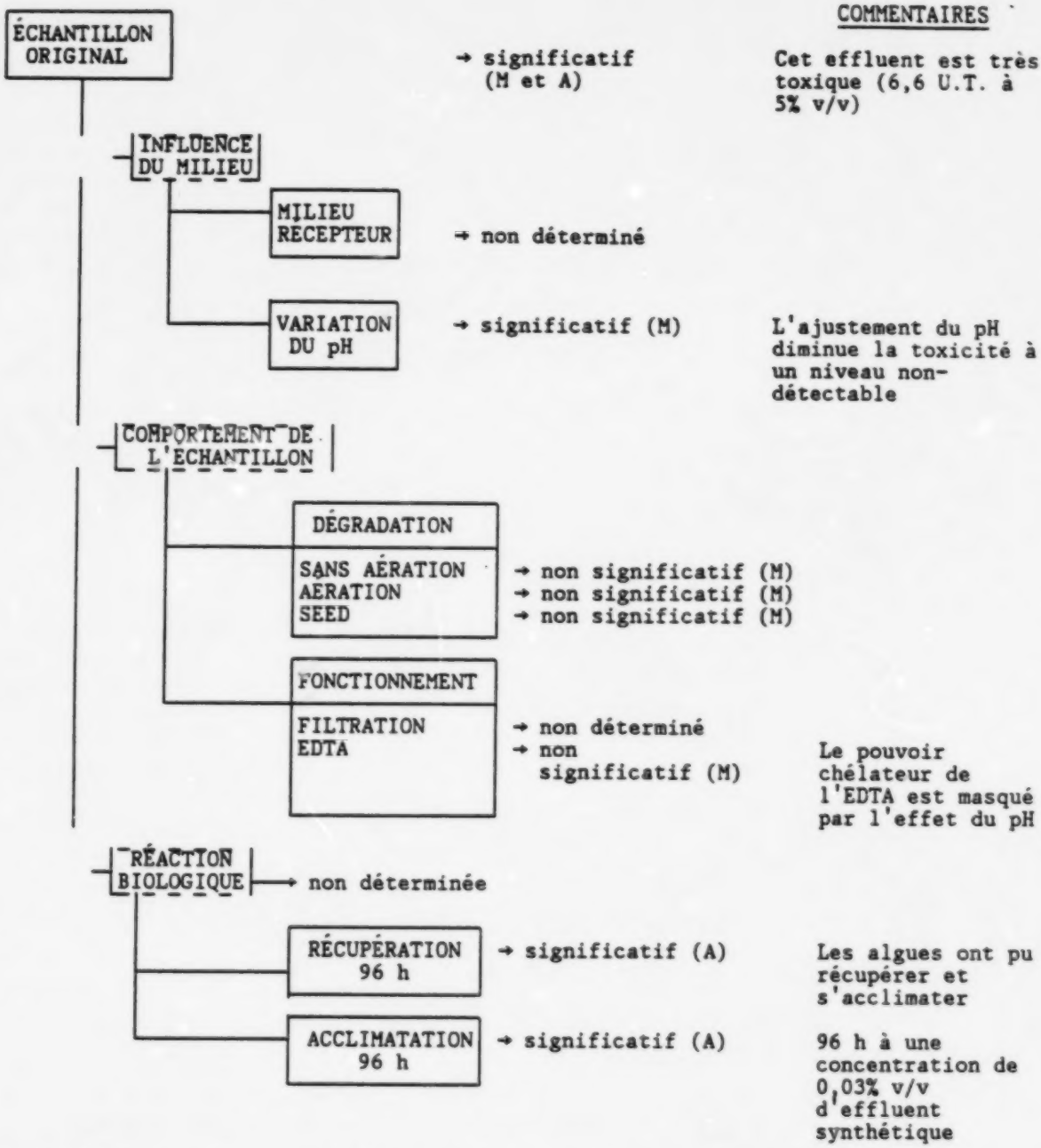
INTERPRÉTATION: L'impact d'un tel rejet dans le milieu est diminué par la dégradation rapide de composés toxiques; il reste que le pH du milieu doit être considéré dans l'évaluation des dangers.

Figure 13: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent de pâtes et papiers avec le biotest Microtox.



INTERPRÉTATION: La toxicité de l'effluent est aussi liée à des produits peu ou pas dégradables dont la toxicité n'est pas modifiée par le pH.

Figure 14: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent de pâtes et papiers avec le biotest algues.



INTERPRÉTATION: La toxicité de l'effluent est persistante et devra être regardaée en fonction de ses effets à moyen et à long terme.

Figure 15: Approche intégrée d'évaluation de la toxicité d'un effluent synthétique d'une usine de placage de métaux avec les biotests (M) Microtox et (A) algues.

maximale que les organismes étudiés peuvent subir une fois l'effluent dilué dans le milieu.

Pour les deux types d'effluent, le même cheminement pourrait être effectué avec des espèces de niveaux trophiques supérieurs (crustacé, poisson), pour évaluer le danger encouru par le maillon le plus sensible. D'autres informations complémentaires devront éventuellement être intégrées à cette démarche de dépistage des dangers des rejets industriels. La procédure de fractionnement aux U.V. donnera une évaluation de l'ampleur du phénomène de photodégradation dans le milieu. Des procédures simples d'évaluation du potentiel de bioconcentration et de biocaccumulation dans la chaine trophique permettront d'affiner l'évaluation de danger encourue par les niveaux trophiques supérieurs, en l'occurence par l'humain qui consomme des organismes aquatiques. Le potentiel génotoxique de l'effluent devra aussi être évalué pour protéger les populations qui puisent leur eau et qui consomment du poisson prélevés en aval des rejets.

Bien qu'il s'avère nécessaire d'expérimenter ces procédures sur d'autres types d'effluents, avec d'autres organismes et d'apporter quelques corrections techniques, les résultats obtenus montrent que ces informations complémentaires peuvent être utiles pour la gestion et le contrôle environnemental des pollutions.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAMS, N., K.H. GOULDING et A.J. DOBBS. 1985. Toxicity of eight water-soluble organic chemicals to Selenastrum capricornutum: A study of methods for calculating toxic values using different growth parameters. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 14: 333-345.

AFNOR (Association française de normalisation). 1977. Méthode d'évaluation en milieux aqueux de la biodégradabilité dite "totale" des produits organiques. Norme T-90-302.

ALLENDER, B.M. 1986. The algal growth test for monitoring Pulp & Paper mill effluents. Appita 39: 21-25.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION et WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. 1980. Standard methods for the examination of water and wastewater. 15th ed. American Public Health Association, Washington, DC. 1134 p.

ANTIA, N.M. et H.Y. CHENG. 1975. Culture studies on the effects from borate pollution on the growth of marine phytoplankters. J. Fish. Res. Board Can. 32: 2487-2494.

AUBERT, M. 1981. Toxicité aiguë et toxicité chronique en milieu aquatique. Dans: Les Colloques de l'INSERM: Les Tests de Toxicité Aiguë en Milieu Aquatique, Leclerc, H. et Dive, D. (eds.), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris, INSERM, 106: 33-45.

BECKMAN INSTRUMENTS INC. 1980. Operating Instructions: Microtox Toxicity Analyser, Model 2055. LAB. Manual, No. 110679B9-80, Beckman Instruments Inc., Carlsbad, CA, 65 pages.

BENGTSSON, B.E. 1984. Some experiences from combined biological and chemical testing of complex effluents. Dans: OCDE Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters) Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN. pp. 323-336.

BLAISE, C., N. BERMINGHAM, R. et VAN COILLIE. 1984. An integrated approach to assess ecotoxicity. Dans: OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN., pp. 215-244.

BLAISE, C., R. VAN COILLIE, N. BERMINGHAM et G. COULOMBE. 1987. Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papier. Revue Internationale des Sciences de l'Eau, 3: 9-17.

BLANCK, H., K. GUTAFSSON et M. ADOLFSSON-ERICI. 1983. Effects of various sterilization methods on toxicity and chemical composition of industrial wastewaters samples. Water Res. 17: 965-973.

BRANSON, D.R. 1977. A new capaciter fluid - a case study in product stewardship. Dans: Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, Mayer F.L. and Hamelink, J.L. (eds.), American Society for Testing and Materials, Special Technical Publication 634, Pennsylvania, pp. 44-63.

COUILLARD, D. 1980. Évaluation de la pollution et des répercussions des rejets des pâtes et papier sur la vie aquatique. The Science of the Total Environment, 14: 167-184.

COUTURE, P. 1981. Contribution de bio-essais avec algues pour l'étude des impacts environnementaux en eau douce. Université Paul Sabatier, Thèse de doctorat de 3e cycle, France, 128 pages.

COUTURE, P., C. THELLEN, P.A. THOMPSON et J.C. AUCLAIR. 1987. Structure and function of phytoplanktonic and microbial communities in relation with industrial wastewater discharge: an ecotoxicological approach in a lotic system. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 167-175.

DAFOE, T., J.H. CAREY, S.H. McCRINDLE, P.G. WELLS et R.C.H. WILSON. 1984. Relationships between the biological testing of industrial effluents and the quality of receiving waters. Canadian approaches and examples. Dans: OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN. p. 245-288.

DUTHIE, J.R. 1977. The importance of sequential assessment in test programs for estimating hazard to aquatic life. Dans: Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. Mayer, F.L. et Hamelink, J.L. (eds.), American Society for Testing and Materials, Special Technical Publication 634, Pennsylvania, pp. 17-35.

EAGL (The Environmental Application Group Limited) 1987. Scientific criteria document for provincial water quality objectives developments resin acids. The Environmental Application Group Limited, Ontario. 72 pages.

FAVA, J.A., J.J. GIFT, A.F. MACIOROWSKI, W.L. McCULLOCH et H.J. REISINGER. 1985. Comparative toxicity of whole and liquid phase sewage sludges to marine organisms. Dans: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, Seventh Symposium, Candwell R.D., Purdy R. et Bahner R.C. (eds.), American Society for Testing and Materials Special Technical Publication 854, Pennsylvania, pp. 229-251.

GILBERT, P.A. 1979. Biodegradability and the estimation of environmental concentration., Ecotox. Environ. Safety, 3: 111-115.

GREENE, J.C., W.E. MILLER, T. SHIROYAMA, R.A. SOLTERO et K. PUTNAM. 1978. Use of laboratory cultures of Selenastrum, Anabaena and the indigenous isolate Sphaerdystis to predict effects of nutrient and zinc interactions upon phytoplankton growth in long lake, Washington., Mitt. Internat. Verein. Limnol. 21: 372-384.

GUERIN, M.R., B.R. CLARK, C.-H. HO, T.J. EPLER et T.K. RAO. 1979. Short-term bioassay of complex organic mixtures: Part I Chemistry. Dans: Application of Short-Term Bioassays in the Fractionation and Analysis of Complex Environment Mixtures., Plenum Publ., New York, pp. 247-267.

HANMER, R.W. et B.J. NEWTON. 1984. Utility of effluent toxicity tests from the U.S. regulatory perspective. Dans: OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN. pp. 353-367.

HORNING, W.B. et C.I. WEBER (ed). 1985. Short-term methods for estimating the chronic toxicity effluents and receiving waters to freshwater organisms. EPA/600/4-85/014. Cincinnati, Ohio, 162 pages.

JOUBERT, G. 1980. A bioassay application for quantitative toxicity measurements, using the green algae Selenastrum capricornutum. Water Res. 14: 1759-1763.

JOUBERT, G. 1981. Étude comparative des réactions à la toxicité entre la truite (Salmo gairdneri) et quatre (4) autres intégrateurs biologiques sur trente-six (36) cas de bioessais statiques. Dans: Proceedings of the Seventh Annual Aquatic Toxicity Workshop, Montréal, Québec, Rap. Tech. Can. Sci. Hal. Aquat. 990: 251-264.

JOUBERT, G. 1983. Detailed method for quantitative toxicity measurements using the green algae Selenastrum capricornutum. Dans: Aquatic Toxicology. Nriagu, J.O. (ed.), Advances in Environmental Science and Technology, Vol. 13, J. Wiley and Sons, New-York, pp. 467-485.

KIMERLE, R.A., G.J. LEVINSKAS, J.S. METCALF et L.G. SHARPF. 1977. An industrial approach to evaluating environmental safety of new products. Dans: Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, Mayer, F.L. et Hamelink, J.L. (eds.), American Society for Testing and Materials, Special Technical Publication 634, Pennsylvania, pp. 36-43.

KUIVASNIEMI, K., V. ELORANTA et L. HALTTUNEN-KEYRILAINEN. 1986. Ageing of bleached kraft mill effluent studied by degradation of chlorinated phenolic compounds and Selenastrum algal assays. Environ. Pollut. (serie A): 41: 247-262.

KUWABARA, S.S. et H.V. LELAND. 1986. Adaptation of Selenastrum capricornutum (chlorophyceae) to copper. Environ. Toxicol. and Chem. 5: 197-203.

LEACH, J.M. et N.N. THAKORE. 1976. Toxic constituents in mechanical pulping effluents. Tappi, 59: 129-132.

LEACH, J.M., J.C. MUELLER et C.C. WALDEN. 1976. Identification and removal of toxic materials from kraft and groundwood pulp mill effluent. Process Biochemistry, pp. 7-10.

LEACH, J.M. et al. 1977. Biodegradability of toxic compounds in pulp mill effluents. Pulp Papers Can. Trans. Tech. Sect. 3: TR126-TR130.

MARUYAMA, T. et T. YOSHIDA. 1984. Biological testing of effluents. Current state in Japan and a proposal of relevant test procedure. Dans: OCDE Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN. pp. 97-122.

MATTHEWS, J.E. et A.A. BULICH. 1986. A toxicity reduction test system to assist in predicting land treatability of hazardous organic wastes. Dans: Hazardous and Industrial Solid Wastes Testing: Fourth Symposium. Petros, J.K., W.J. Lacy et R.A. Conway (eds.). American Society for Testing and Materials, Special Technical Publication 886, Pennsylvania, pp. 176-191.

MCLEAY, D. et associés. 1987. Enquête bibliographique sur la toxicité des effluents de l'industrie des pâtes et papiers pour les biocénoses aquatiques. Environnement Canada, Conservation et Protection, Rapport SPE 4/PF/1, 183 pages.

MILLER, W.E., J.C. GREENE et T. SHIROYAMA. 1978. The Selenastrum capricornutum Printz Algal Assay Bottle Test. EPA-600/9-78-018, Corvallis Environmental Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, 125 pages.

Ministère de l'environnement du Québec. 1985. Rapport sur l'échantillonnage des effluents de l'usine de pâtes et papiers. La compagnie CIP Inc. à La Tuque. MENVIQ réf.: 1116-2476, Québec, 27 pages.

Ministère de l'environnement du Québec. 1986. Toxicité relative des eaux usées de l'usine Tioxide Canada Inc. (Tracy). Environnement Québec, Direction des laboratoires, Québec, rapport interne, 16 pages.

MOUNT, D.I. 1984. The role of biological assessment in effluent control. Dans: OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters), Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth, MN. pp. 15-30.

OCDE (Organisation de coopération et de développement économique). 1984. OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environment Canada, Duluth. MN. 367 pages.

PARKHURST, B.R., A.S. BRADSHAW, J.L. FORTE et G.P. WRIGHT. 1979. An evaluation of the acute toxicity to aquatic biota of a coal conversion effluent and its major components. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23: 349-356.

PARRISH, R.R. 1985. Acute toxicity tests. Dans: Fundamentals of aquatic toxicology. Rand, G.M. et Petrocelli, S.M. (eds.), Hemisphere Publishing Corporation, New-York, pp. 31-56.

PELTIER, W. et C.I. WEBER (eds.). 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. Third edition. Environmental Monitoring and support laboratory. EPA 600/4-85-013, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. 230 pages.

RAI, L.C., J.P. GAUR et H.D. KUMAR. 1981. Phycology and heavy-metal pollution. Biol. Rev. 56: 99-151.

RANDALL, C.W. 1985. The response of activated sludge systems to toxic conditions. Dans: International Conference on New Directions and Research in Waste Treatment and Residuals Management. The University of British Columbia, British Columbia, pp. 828-842.

REECE, C.H. et S.L. BURKS. 1985. Isolation and chemical characterisation of petroleum refinery wastewater fractions acutely lethal to Daphnia magna. Dans: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, Seventh Symposium, Cadwell R.D., Purdy R. et Bahner R.C. (eds.), American Society for Testing and Materials, Special Technical Publication 854, Philadelphia, pp. 319-332.

RENBERG, L. 1984. Principles for composing biological-chemical test systems for complex effluents. Dans: OECD Proceedings of the International Workshop on Biological Testing of Effluents (and Related Receiving Waters). Sept. 10-14 1984, U.S. Environmental Protection Agency and Environmental Canada, Duluth. MN. pp. 337-352.

SAMOILOFF, M.R., J. BELL, D.A. BIRKHOLZ, G.R. BARRY WEBSTER, E.G. ARNOTT, R. PULAK et A. MADRID. 1983. Combined bioassay - chemical fractionation scheme for the determination & ranking of toxic chemicals in sediments, Environ. Sci. Technol., 17: 329-334.

SIMOVIC, L. et W.J. SNODGRASS. 1985. Natural removal of cyanides in gold mining effluents. Evaluation of Removal Kinetics. Water Pollut. Res. J. Canada, 20: 120-135.

SPRAGUE, J.B. 1985. Factors that modify toxicity. Dans: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand, G.M. et Petrocelli, S.M. (eds.), Hemisphere Publishing Corporation, New-York, pp. 124-163.

SPRAGUE, J.B. et B.A. RAMSAY. 1965. Lethal levels of mixed copper-zinc solutions for juveniles Salmon. J. Fish. Res. Bd. Can. 22: 425-432.

STOCKNER, J.G. et N.J. ANTIA. 1976. Phytoplankton adaptation to environmental stresses from toxicants, nutrients and pollutants - a warning., J. Fish. Res. Board Can. 33: 2089-2096.

STOKES, P.M. 1983. Responses of freshwater algae to metals. Prog. Phycol. Res., 2: 87-112.

THOMPSON, P.-A., P. COUTURE, C. THELLEN et J.C. AUCLAIR. 1987. Structure-function relationships for monitoring cellular stress and recovery response with Selenastrum capricornutum. Aquat. Toxicol. 10: 291-305.

TURBAK, C.S., S.B. OLSON et G.A. McFETERS. 1986. Comparison of algal assay systems for detecting waterborne herbicides and metals. Water Res., 20: 91-96.

U.S. EPA. (United State Environmental Protection Agency). 1978. The Selenastrum capricornutum Printz algal assay bottle test. EPA-600/9-78-018. Corvallis Environmental Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Oregon, 125 pages.

U.S. EPA. 1985. Technical support document for water quality-based toxics control., Office of Water Enforcement and Permits, Office of Water Regulations and Standards, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 74 pages + annexes.

VAN COILLIE, R., P. COUTURE, R. SCHOENERT et C. THELLEN. 1982. Évaluation de la toxicité d'un effluent et de ses composantes principales avec l'algue Selenastrum capricornutum. Rapport scientifique Eco-Recherches Inc., Québec, 130 pages.

WALSH, G.E. et R.L. GARNAS. 1983. Determination of bioactivity of chemical fractions of liquid wastes using freshwater and saltwater algae and crustaceans. Environ. Sci. Technol., 17: 180-182.

WANG, W. 1986. Acclimatation and response of algal communities from different sources to zinc toxicity, Water, Air and Soil Pollution, 28: 335-349.

WESTALL, J.C., J.L. ZACHARY et F.M. MOREL. 1976. MINEQL, a computer program for the calculation of chemical equilibrium composition of aqueous systems. Technical Report No 18, Department of Civil Engineering, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, 91 pages.

Annexe I

Compte-rendu sur l'échantillonnage de l'effluent de pâtes et papiers (CIP, La Tuque)

Compte-rendu sur l'échantillonnage de l'effluent de pâtes et papiers (CIP, La Tuque)

L'usine de la compagnie CIP de La Tuque est une fabrique de pâte au sulfate (Kraft) blanchie et non-blanchie. Les eaux de procédé se déversent après traitement primaire dans la rivière St-Maurice via un seul effluent. Le traitement primaire comprend un décanteur primaire installé en 1972 et une lagune de sédimentation installée en 1984. De plus, les effluents de blanchiment et la sortie du décanteur primaire se mélangent de manière à ajuster les valeurs de pH avant le déversement à la rivière St-Maurice. L'échantillonnage a eu lieu sur l'effluent final, au point de rejet en rivière.

Le relevé a été effectué en continu pendant huit(8) heures, soit le 11 novembre 1986, de 10:00 heures à 18:00 heures. Il comprend les mesures et les échantillonnages suivants:

1. échantillonnage en continu de l'effluent final jusqu'à concurrence de 80 litres;
2. Mesure de pH et de la température en continu sur l'effluent final;
3. échantillonnage instantanné de l'eau de la rivière St-Maurice (~ 40 L) tout juste en amont du point de rejet.

Les échantillons d'effluent et de rivière ont été conservés à près de 0°C pour minimiser la dégradation chimique et biochimique, et à l'obscurité pour minimiser la photodégradation.

Sur le terrain, des sous-échantillons, issus du composé, ont été prélevés pour les différentes analyses chimiques, dans des bouteilles de polyéthylène. Ils ont été acheminés dans des glacières aux laboratoires concernés dès le lendemain matin.

Annexe II

Caractéristiques physico-chimiques de l'effluent de l'usine de pâtes et papiers (Tableau A), de l'eau de la rivière St-Maurice prélevée à l'amont (Tableau B) et de l'effluent synthétique (Tableau C).

Tableau A: Caractéristiques physico-chimiques de l'effluent de l'usine de pâtes et papiers de La Tuque, échantillonné le 11 novembre 1986.

paramètre	mg/L
MES	39
Solides dissous	934
DBO_5 totale	166
DBO_5 filtrée	152
DCO totale	660
DCO filtrée	570
N_T-Kj	2,4
NH_3	1,13
NO_2-NO_3	0,55
COT	8,6
P total organique	0,24
P total inorganique	0,3
pH	4,4
dureté	132
alcalinité	< 1
sulfates	73
chlorures	260
cyanures	0,002
Tannins-lignines	68
chloroformes	1,8
haloformes	0,02

Tableau A: Caractéristiques physico-chimiques de l'effluent de l'usine de pâtes et papiers de La Tuque, échantillonné le 11 novembre 1986 (suite).

paramètre	mg/L
phénols	
α-métoxy-phénol	0,517
α-terpinéol	0,674

Acides résiniques	µg/L
sandaracopimarique	105
isopimarique	227
polustrique	292
déhydroasiétique	1035
abiétique	819
néoasiétique	129
lévopimarique	91

Métaux	Filtré (Whatman # 4) mg/L	Extractibles mg/L
Mn	0,65	0,64
Fe	0,39	0,35
Ca	49,9	47,9
Mg	1,8	1,7
Na	171	152
K	4,4	3,9
Cu	0,005	0,067
Zn	0,09	0,12
Al	0,64	0,60
Cr	0,028	0,031

Tableau B: Caractéristiques physico-chimiques de l'eau de la rivière St-Maurice, échantillonnée le 11 novembre 1986

Paramètre	mg/L
MES	2
Solides dissous	-
DBO totale	0,9
DCO totale	22
N_T-K_j	0,6
N-NH_3	0,08
NO_2-NO_3	0,09
P-total	<0,3
O-PO_4	<0,01
pH	6,5
dureté	8
alcalinité	5,2

Métaux	Filtré (Whatman # 4) mg/L	Extractibles mg/L
Mn	0,01	0,01
Fe	0,33	0,32
Ca	2,2	2,1
Mg	0,5	0,5
Na	1,4	1,2
K	0,5	0,5
Cu	< 0,001	< 0,01
Zn	0,01	0,02
Al	0,11	0,11
Cr	0,004	< 0,003

Tableau C: Caractéristiques physico-chimiques de l'effluent original d'une usine de placage de métaux (tiré de Van Coillie et al., 1982).

SUBSTANCE	CONCENTRATION ANALYSÉE (mg/l)	CONCENTRATION TOTALE TOLÉRÉE* (mg/l)
Matières totales en suspension	102	30
Cadmium	n.d.**	1,5
→ Chrome	21,4	1,0
→ Cuivre	7,6	1,0
Plomb	n.d.	1,5
→ Zinc	2,1	2,0
→ Nickel	68,0	2,0
Cyanures oxydables	n.d.	0,1
totaux	<0,003	3,0
Ortho-phosphates	0,01	-
Phosphates totaux	0,03	-

* Environnement Canada (1977b)

** n.d.: non détecté

N.B.: Analyses faites selon des techniques courantes (APHA et al., 1980).

Annexe III

Données complémentaires relatives au biotest algal

Choix de la sonde pour le test algal

Dans les protocoles conventionnels, on retrouve une panoplie de méthodes pour mesurer la biomasse algale. Le poids sec est recommandé par Miller et al. (1978), mais il est difficile à déterminer aux faibles concentrations cellulaires. La mesure de densité optique est aussi peu sensible aux faibles concentrations cellulaires, et ceci soit in vivo, avec les cellules intactes, ou in vitro, après extraction de la chlorophylle. La fluorescence a la réputation d'être plus sensible que la densité optique, mais elle n'est pas largement utilisée. Le dénombrement cellulaire, à l'aide d'un compteur électronique de particules, a été critiqué, car ce mode de dénombrement ne distingue pas les cellules mortes et les débris cellulaires des cellules vivantes. Certains auteurs recommandent alors d'éviter cette méthode de détermination pour les bioessais dont la durée dépasse 10-12 jours. Il reste que c'est probablement la méthode la plus utilisée et que c'est la méthode à partir de laquelle les autres mentionnées ici sont calibrées. Le patron de croissance de l'algue S. capricornutum est mieux adapté au comptage électronique que celui d'autres espèces recommandées dans les différentes directives (Adams et al., 1985).

Tableau D: Procédure de nettoyage de la verrerie (Couture, 1981).

1) trempage pendant 30 minutes dans une solution bouillante de Decon 75 (10%)

2) brossage

3) cycles de lavage:

   - pré-rinçage
   - lavage
   - rinçage
   - rinçage

4) rinçage à l'acide chlorhydrique 10% durant 30 minutes

5) rinçages consécutifs (7 fois) à l'eau déminéralisée

6) séchage à 100°C durant 30 minutes

Tableau E: Composition du milieu de culture AAP sans EDTA (Chiaudani et Vighi, 1978).

	Solution mère	Milieu de culture
Éléments majeurs	mg/L	mg/L
$NaNO_3$	25,500	4,200 (N)
$NaHCO_3$	15,000	11,001 (Na)
		2,143 (C)
K_2HPO_4	1,044	0,469 (K)
		0,186 (P)
$MgSO_4,7H_2O$	14,700	1,911 (S)
$MgCl_2$	5,700	2,904 (Mg)
$CaCl_2,2H_2O$	4,410	1,202 (Ca)
Éléments traces	µg/L	µg/L
H_3BO_3	185,520	32,460 (B)
$MnCl_2$	264,264	115,374 (Mn)
$ZnCl_2$	0,3336	0,160 (Zn)[1]
$CoCl_2$	0,1542	0,070 (Co)[1]
$CuCl_2$	0,009	0,004 (Cu)
$Na_2MoO_4,2H_2O$	7,260	2,878 (Mo)
$FeSO_4$	149,6	55,00 (Fe)[1]

[1] Les teneurs en Zn, Co et Fe sont différentes de celles utilisées dans le milieu AAP avec EDTA (Miller et al., 1978).

Annexe IV

Composition de l'eau synthétique utilisé avec le "seed" bactérien commercial

Tableau F: Composition chimique de l'eau synthétique utilisée avec le "seed".

	Solution mère[1]
Éléments majeurs	**g/L**
Tampon pH: 7.2	-
$FeCl_3.6H_2O$	25.0
$MgSO_4.7H_2O$	22.5
$CaCl_2$	27.5
Tampon	
KH_2PO_4	8,5
K_2HPO_4	21,75
$Na_2HPO_4.7H_2O$	33,4
NH_4Cl	1,7

[1] Pour obtenir l'eau synthétique, 1 mL des quatre premières solutions sont dilués dans 1 litre d'eau.

Ministere de
l'Environnement